Die Methoden

der

MILCHUNTERSUCHUNG

für Aerzte, Chemiker und Hygieniker

zusammengestellt von

Dr. **Paul Sommerfeld,**

Chemischen Assistenten am Kaiser und Kaiserin Friedrich Kinderkrankenhaus zu Berlin.

ROYAL COLLEGE OF PHYSICIANS, EDINB. LIBRARY.

Mit einem Vorwort

von

Dr. **Adolf Baginsky,**

a. o. Professor der Kinderheilkunde an der Universität,
Director des Kaiser und Kaiserin Friedrich Kinderkrankenhauses zu Berlin.

Berlin 1896.

Verlag von August Hirschwald.

NW. Unter den Linden 68.

R39374

Vorwort.

Die Nothwendigkeit für die Pfleglinge eines Kinderkrankenhauses das wichtigste Nahrungsmittel des kindlichen Alters in reinster, unverfälschter und zweckmässigster Weise zu beschaffen, hat dazu geführt, dass das Kaiser- und Kaiserin-Friedrich-Kinderkrankenhaus der Erfüllung dieser Aufgabe seit längerer Zeit ganz besondere Aufmerksamkeit schenkt. Dasselbe hat die Produktion einer guten Milch dadurch in die Wege geleitet, dass es mit dem Besitzer eines in seiner Nähe gelegenen Kuhstalls feste Abmachungen über die Auswahl der Kühe, die Art ihrer Ernährung und Pflege, die reinste Gewinnung der Milch u. s. w. getroffen hat.

Die prompte Erfüllung der festgestellten Bedingungen ist unter die Controlle des Herrn Dr. Sommerfeld gegeben und aus der ihm zugefallenen Aufgabe ist die Zusammenstellung und Anwendung jener zweckentsprechenden und expediten Methoden hervorgegangen, welche in der vorliegenden Schrift der Oeffentlichkeit übergeben werden. Es wird sicherlich im Interesse anderer mit der Pflege von Kindern betrauter Anstalten liegen, dieselben kennen zu lernen und wir hoffen so auch weiteren Kreisen mit der Zusammenstellung derselben zu dienen.

Adolf Baginsky.

Digitized by the Internet Archive
in 2015

https://archive.org/details/b21717564

Inhalts-Verzeichniss.

Seite

Einleitung 1

Qualitative Untersuchung der Milch 2

I. Nachweis des Fettes — Bestimmung der Hehner'schen und Reichert'schen Zahlen — Fett verschiedener Milchsorten.

II. Nachweis des Caseins — Erkennung durch Reactionen.

III. Milchzucker — Isolirung und Reactionen desselben.

Quantitative Untersuchungsmethoden 8

I. Bestimmung des specifischen Gewichtes 8

Durch das Pyknometer — Araeometrische Verfahren — in Vollmilch und abgerahmter Milch — Lactodensimeter nach Quevenne — Polizeilicher Milchprüfer — Tabellen.

II. Bestimmung der Reaction und der Acidität 10

Aenderung der Reaction — Quantitative Bestimmung durch Titration mit Normalnatron — Ungefähre Bestimmung des Alters der Milch durch Titration mit Barythydrat.

III. Bestimmung der Trockensubstanz 12

IV. Bestimmung der Salze 13

Veraschung — Phosphorsäure in der Asche — Fällung mit Molybdänsaurem Ammonium.

V. Bestimmung des Fettgehaltes 14

Gewichtsanalytische Methode und Extraction nach Soxhlet — Modification von Pfeiffer — von Fernandez-Krug-Hampe — Methode von Liebermann-Szeekely-Weiss — Araeometrische Methode von Soxhlet — Cremometer nach Chevalier — Lactoskope — Lactobutyrometer — Centrifugirmethoden.

VI. Bestimmung der Eiweisskörper 24

Ermittelung des Gesammtstickstoffs nach Kjeldahl — Methoden der Eiweissfällung mit der Modification von Munk — Tanninfällung — Ritthausen-Stutzer'sches Verfahren — Trichloressigsäurefällung.

VII. Bestimmung des Milchzuckers 28

Titrirung mit Fehling'scher Lösung — Gewichtsanalytische Methode nach Soxhlet-Allihn — Ermittelung der Circularpolarisation.

VIII. Bestimmung der Citronensäure 33

Verfahren von Vaudin — von Scheibe,

Seite

Nachweis von Conservirungsmitteln 36
Werth derselben vom hygienischen und praktischen Standpunkt — Nachweis von Borsäure und Borax — Quantitative Methode von Cassal — Natriumbicarbonat, Soda — Salicylsäure — Benzoesäure — Formalin — Chromsäure, chromsaure Salze, Quecksilbersalze — Fluornatrium.

Nachweis von Verfälschungen 41
Wasser — Bestimmung der vermehrten Schwefelsäure in der Asche — Nachweis von im Wasser enthaltener Salpetersäure durch Diphenylaminreaction — Verfahren von Lézé und Hilsont — Bestimmung der Gerinnungsdauer durch Lab nach Lescoeur — Beobachtung der Gefrierpunktserniedrigung nach Beckmann — Verfälschung durch Stärke, Leim, Dextrin — Unterschied von Amyloid.

Bestimmung von Milchschmutz 45
Verfahren von Renck — Bestimmung des Schmutzes in Milchflaschen nach Stutzer.

Untersuchung condensirter Milch 46
Nachweis verdünnter condensirter in frischer Milch.

Untersuchung geronnener Milch 46
Bestimmung des Fettes in derselben — Specifisches Gewicht.

Bakteriologische Untersuchung der Milch 47
I. Einleitung — Herstellung der Präparate aus der Milch — Züchtung.
II. Feststellung der Keimzahl.
III. Die Milchfehler — Ursachen und Erreger derselben — Beseitigung — Bakterien der bitteren Milch — Peptonisirende Arten Flügge's — Ursachen der normalen und anormalen Gerinnung.
IV. Nachweis pathogener Mikroorganismen — Tuberkelbacillus — Methode von Arens — von Alessi — von Schrauck — von Thörner — von Ilkewitsch — Züchtung des Tuberkelbacillus — Thierversuch — Cholera — Typhus — Bacterium coli commune — Pyogene Coccen — Coccen der infectiösen Mastitis — Coccen Guillebeaus.

Anhang: Untersuchung von Milchpräparaten, Kindermehlen . . . 56
Wasserbestimmung — Trockensubstanz — Asche — Fett — Extract — Kohlehydrate — Eiweissstoffe.

Einleitung.

Die Milch, das in seinen Eigenschaften Jedem bekannte Sekret der Brustdrüsen der weiblichen Säugethiere ist vornehmlich charakterisirt durch das Vorhandensein von drei ihm allein zukommenden Stoffen, dem Casein, dem Butterfett und dem Milchzucker. Ausser diesen ist in den verschiedenen Milcharten eine grosse Reihe von mehr oder minder wichtigen Substanzen nachgewiesen worden. Von Bedeutung für das Verhalten der Milch bei der Verdauung sind die mineralischen Bestandtheile, besonders Kalk und Phosphorsäure. In engster Beziehung hierzu steht die in der Kuhmilch stets vorhandene Citronensäure. In normaler Milch wurden u. a. gefunden Alkohol, Essigsäure (Béchamp), Ammoniak (Latschenberger), Milchsäure, Harnstoff (Bouchardat, Quevenne, Morin, Picard, Lefort), Lecithin, Cholesterin, Hypoxanthin (Tolmatscheff, Schmidt-Mühlheim), Fluor (Wilson), Schwefelcyansäure (Musso), Kreatinin (Weyl). Die Milch der einzelnen Gattungen unterscheidet sich, entgegen früheren Ansichten, nicht nur durch physikalische Eigenschaften und durch die verschiedene Quantität der einzelnen Bestandtheile, sondern es zeigen diese selbst eine verschiedenes chemisches Verhalten. Es ist z. B. das Casein der menschlichen Milch chemisch ein anderer Körper wie das Casein der Kuhmilch (Biedert, Camerer, Lehmann). Das Fett der einzelnen Milchsorten zeigt ein verschiedenes chemisches Verhalten, während der Milchzucker in allen Gattungen derselbe ist (Denigès). Die Untersuchung der Milch behufs Beurtheilung ihrer Güte hat sich zu erstrecken auf die (quantitative) Bestimmung von spec. Gewicht, Trockensubstanz, Eiweiss, Fett, Zucker, Asche, Phosphorsäure in der Asche, Schmutz, Nachweis von Verfälschungen und Conservirungsmitteln.

Qualitative Untersuchung der einzelnen Milcharten.

Zur Entscheidung der allerdings nur selten an den Analytiker herantretenden Frage, ob eine zur Untersuchung gelangende Flüssigkeit Milch ist, isolirt man die dieser eigenthümlichen Bestandtheile, Casein, Milchzucker und Fett.

I. Fett.

Das Fett extrahirt man zu diesem Zweck nach einer der weiter unten angegebenen Methoden und erkennt, wenn man es mit Milch zu thun hatte, unschwer die bekannten Eigenschaften der Butter. — Die Aetherlösung der Kuhbutter ist schwach gelb, die des menschlichen Colostrums orange bis rubinroth (Pfeiffer), die des Fettes aus Ziegenmilch farblos (Schaffer). Eine durch andere Stoffe hervorgerufene milchige Trübung einer Flüssigkeit verschwindet nicht beim Schütteln mit Aether. Genaue Anhaltspunkte, dass ein vorliegendes Fett Butter ist, geben die Bestimmungen der flüchtigen Fettsäuren nach Reichert und der unlöslichen Fettsäuren nach Hehner. Letztere beruhen auf der Thatsache, dass die Butter etwa 87 pCt. (je nach Futter und Jahreszeit in geringen Grenzen schwankend) in Wasser unlösliche Fettsäuren enthält, gegenüber etwa 92—95 pCt. bei anderen Thier- und Pflanzenfetten. Die Bestimmung, die etwa 200 ccm Milch erfordert, geschieht wie folgt:

„Man[1]) nimmt aus der gewogenen Buttermasse 3—4 g mittelst eines Glasstabes heraus und bringt dieselben in eine Abdampfschale von 10 bis 12 ccm Durchmesser; der Glasstab mit dem daran klebenden Fette kommt gleichfalls in die Schale. Die Buttermasse wird wieder gewogen und so die angewandte Butterfettmenge genau in Erfahrung gebracht. Man fügt nun zu dem Fette 50 ccm Alkohol und ein 1—2 g wiegendes Stückchen reines Aetzkali. Der Alkohol wird auf dem Wasserbade

1) Aus Zeitschr. f. analyt. Chemie. XVI. 145.

bade mässig erwärmt, wobei sich das Butterfett, besonders beim Umrühren, mit Leichtigkeit zu einer klaren gelben Flüssigkeit löst und sich ein starker Geruch nach Buttersäureäther bemerkbar macht. Man erwärmt ungefähr fünf Minuten lang und fügt sodann tropfenweise destillirtes Wasser zu. Entsteht hierdurch eine Trübung von ausgeschiedenem unzersetztem Fett, so erhitzt man etwas länger, bis zuletzt weiterer Zusatz von Wasser die Flüssigkeit nicht mehr im Allergeringsten trübt. Die Verseifung ist dann vollendet. Sollte aber, durch unvorsichtigen Wasserzusatz sich Fett in öligen Tropfen, die sich nicht leicht in dem nun zu verdünnten Alkohol wieder lösen, ausgeschieden haben, so muss man entweder fast zur Trockne dampfen und durch erneuerten Alkoholzusatz lösen, oder besser wird der Versuch mit einer neuen Buttermenge von vorn angefangen. Geschieht die Verdünnung mit Wasser nur einigermassen vorsichtig, so wird eine solche bleibende Ausscheidung von Fett nicht leicht vorkommen. Die klare Seifenlösung wird zur Entfernung des Alkohols auf dem Wasserbade bis zur Syrupconsistenz eingedampft, sodann der Rückstand in etwa 100—150 ccm Wasser gelöst. Zu der klaren Flüssigkeit fügt man nun zur Zersetzung der Seife verdünnte Salz- oder Schwefelsäure, bis zur stark sauren Reaction. Hierdurch scheiden sich die unlöslichen Fettsäuren als käsige Masse ab, welche zum grössten Theil rasch zur Oberfläche steigt. Das Erhitzen wird eine halbe Stunde lang fortgesetzt, bis die Fettsäuren zu einem klaren Oele geschmolzen sind, und die saure wässrige Flüssigkeit sich fast völlig geklärt hat.

Mittlerweile hat man im Wasserbade ein etwa 10 cm im Durchmesser grosses Filter vom dichtesten, schwedischen Filtrirpapier getrocknet. Das Filterpapier muss von der besten Qualität und so dicht sein, dass selbst heisses Wasser nur tropfenweise davon durchgelassen wird. Man wäge ein kleines Bechergläschen, ferner eine Filterröhre und drittens Filterröhre plus Filter. So erhält man das Gewicht des Filters plus Bechergläschen. (Vorzüglich geeignet zu diesen Operationen sind die gehärteten Filterpapiere der Firma Schleicher & Schüll).

Das gewogene Filter wird dicht in einem Trichter angelegt, gehörig befeuchtet und halb mit Wasser gefüllt; dann giesst man aus der Schale die wässrige Flüssigkeit und das geschmolzene Fett auf und wäscht die Schale und Glasstab mit ganz kochendem Wasser. Es hat keine Schwierigkeit, alles Fett auf das Filter zu bringen, so dass die Schale nicht mehr im Geringsten fettig erscheint. Zur Beruhigung kann man sie aber mit Aether waschen und die so erhaltene Flüssigkeit nachher zu den Fettsäuren fügen. Gewöhnlich beträgt jedoch die mit Aether ausgezogene Fettmenge weniger als 1 Milligramm.

Die Fettsäuren werden auf dem Filter mit kochendem Wasser auf das sorgfältigste gewaschen. Man füllt den Trichter nie mehr als bis zu zwei Dritteln voll. Wenn das Filtrat, mit empfindlicher Lackmustinctur geprüft, nicht mehr sauer erscheint (3 g Fett gebrauchen gewöhnlich $^3/_4$ Liter kochendes Wasser), lässt man alles Wasser abtropfen und taucht den Trichter in ein mit kaltem Wasser gefülltes Becherglas, so dass der Spiegel der Flüssigkeit innen und aussen annähernd derselbe ist. Sobald die Fettsäuren erstarrt sind, wird das Filter aus dem Trichter herausgenommen, in das gewogene Becherglas gestellt und im Wasserbade bis zu konstantem Gewicht getrocknet."

E. Reichert[1]) bestimmt im Gegensatz zu Hehner die flüchtigen Fettsäuren und schreibt folgendes Verfahren vor:

„2,5 g wasserfreies, durch Baumwolle filtrirtes und gereinigtes Fett werden in flüssigem Zustande in einem etwa 150 ccm fassenden Kölbchen — am besten von der von Erlenmeyer angegebenen Form — abgewogen, sodann 1 g festes Kalihydrat und 20 ccm 80 pCt. Weingeist hinzugefügt. Diese Mischung wird im Wasserbade unter fleissigem Umschütteln so lange behandelt, bis die erhaltene Seife eine nicht aufschäumende, schmierige Masse bildet. Hierauf werden 50 ccm Wasser in das Kölbchen gegeben und die Seife, nachdem sie sich in Wasser gelöst hat, mit 20 ccm verdünnter Schwefelsäure (1 ccm reiner Schwefelsäure auf 10 ccm Wasser) zerlegt. Man unterwirft nun den Inhalt des Kölbchens der Destillation mit der Vorsicht, dass man, um das Stossen der Flüssigkeit zu vermeiden, einen schwachen Luftstrom durch letztere leitet. Auch empfiehlt es sich, eine Kugelröhre mit weiter Oeffnung mit dem Kölbchen zu verbinden, um ein Uebers pritzen von Schwefelsäure zu verhüten. Das Destillat, welches namentlich bei butterarmen Fetten und bei rascher Destillation stets etwas feste Fettsäuren absetzt, wird unmittelbar durch ein angefeuchtetes Papierfilter in ein 50 ccm fassendes Kölbchen filtrirt. Nachdem etwa 10 — 20 ccm davon übergegangen, giesst man es wieder in das Kölbchen zurück und setzt hierauf die Destillation fort, bis das Kölbchen genau 50 ccm Destillat enthält. Das Destillat, welches bei mässigem Gange der Destillation eine wasserhelle Flüssigkeit bildet, wird sofort nach Zusatz von einigen Tropfen Lackmustinctur mit $^1/_{10}$ Normallauge titrirt. Das Titriren ist beendet, wenn die blaue Farbe des Lackmus auch nach längerer Zeit bestehen bleibt." Nach Reichert's Angaben gebrauchen 2,5 g Butterfett zwischen 12,15 und 14 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. Zahlen ausserhalb dieser Grenze zeigen, dass kein reines Butterfett vorliegt. Nach Untersuchungen von Pizzi zeigt das

1) Aus Zeitschr. f. analyt. Chemie. XVIII. 68.

Milchfett verschiedener Säugethiere geringe Unterschiede in Bezug auf den Gehalt an flüchtigen Fettsäuren und ist hiermit ein Mittel zur Erkennung der Art, von der eine Milch stammt gegeben. Diese Arbeiten haben aber ein geringes praktisches Interesse, da es sich in den meisten Fällen um die Erkennung des Fettes der Kuhmilch handelt.

II. Eiweisskörper.

Zur Prüfung der Milch oder milchähnlichen Flüssigkeit auf den charakteristischen Eiweisskörper, verdünnt man dieselbe mit etwa dem gleichen Volumen Wasser, setzt Salzsäure bis zur stark sauren Reaction zu und kocht auf. Dabei muss ein käsiger, sich rasch und gut absetzender Niederschlag entstehen, der aus Casein und Fett besteht. Er wird abfiltrirt, auf dem Filter erst mit Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaction des Filtrats, dann zur Entfernung des Fettes mit Alkohol und endlich mit Aether gründlich ausgewaschen und folgenden Reactionen unterworfen:

1. Er löst sich leicht in sehr verdünnten Alkalien und wird aus der alkalischen Lösung durch vorsichtigen Säurezusatz wieder ausgefällt.

2. Durch Behandeln mit Säuren im Ueberschuss tritt Lösung ein. Die saure Lösung wird durch Lab gefällt.

3. Beim Kochen der sauren oder alkalischen Lösung darf keine Fällung eintreten.

4. Alkalioxalat bewirkt Lösung zu einer milchigen opalescirenden Flüssigkeit. Die Lösung wird nicht durch Verdünnung, wohl aber durch Eintragen von festem Magnesiumsulfat gefällt.

5. Fluornatrium bewirkt Lösung, namentlich beim Erwärmen. Durch Einleitung von Kohlensäure tritt Fällung ein.

6. Eine Probe wird im Porzellantiegel mit Soda und Salpeter geschmolzen. Die erkaltete Schmelze in verdünnter Salpetersäure gelöst giebt die Reactionen der Phosphorsäure. (Magnesiummischung, Molybdänsaures Ammonium) (vergl. S. 13).

Der positive Ausfall der beschriebenen Reactionen zeigt das Vorhandensein von Casein mit Bestimmtheit an.

III. Milchzucker.

Zur Identifizirung des der Milch eigenthümlichen Kohlehydrates, des Milchzuckers, muss man diesen Körper isoliren und rein darstellen:

100 — 200 ccm Milch werden durch Essigsäure in der beim Casein geschilderten Weise oder durch Lab gefällt, durch ein leinenes Tuch filtrirt (colirt), das Filtrat 10 Minuten zur völligen Abscheidung des Albumins erhitzt, wieder filtrirt und bis zur Krystallisation eingedampft.

Nach einigen Tagen haben sich farblose, glänzende Krystalle (rhombische Prismen) abgeschieden, die nach Entfernung der Mutterlauge durch Umkrystallisiren aus der warmen wässrigen Lösung völlig rein erhalten werden.

Der Milchzucker zeigt folgende charakteristische Eigenschaften:

1. Er reduzirt alkalische Kupferlösungen unter Abscheidung von rothem Kupferoxydul. Seine Reduktionsfähigkeit ist aber eine andere wie die des Traubenzuckers. (Vergl. S. 31.) Man versetzt eine wässrige Lösung von Milchzucker mit Natronlauge und dann tropfenweise mit Kupfersulfatlösung, so lange der entstehende blaue Niederschlag beim Umschütteln verschwindet. Beim Erhitzen der tiefblauen Lösung fällt rothes Kupferoxydul aus.

2. Er reduzirt auch alkalische Wismuth-, Silber- und Quecksilberlösungen.

3. Kocht man Milchzuckerlösungen etwa 5 Minuten mit einer grösseren Menge Bleizucker und versetzt die siedende Mischung so lange mit Ammoniak, bis eben ein bleibender Niederschlag entsteht, so färbt sich die Lösung kirschroth und nach einiger Zeit setzt sich ein ebenso gefärbter Niederschlag ab. (Rubner.)

4. Erwärmt man Milchzuckerlösungen mit gleichen Theilen Phenylhydrazin und 50 pCt. Essigsäure (oder mit 2 Theilen salzsaurem Phenylhydrazin und 3 essigsaurem Natrium) etwa eine Stunde auf dem Wasserbade, so bildet sich Lactosazon, das beim Erkalten in goldgelben Nadeln sich abscheidet. Durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser erhält man das Lactosazon rein, bei 200° schmelzend. (Das Osazon des Traubenzuckers, das Glucosazon schmilzt bei 205°.)

5. Milchzuckerlösungen dürfen nicht sofort, wohl aber nach einstündigem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure und Neutralisation mit kohlensaurem Kalk auf Zusatz von Hefe alkoholische Gährung zeigen.

5. Sie müssen die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts ablenken, $(\alpha)\ D = +\ 52{,}5$. Die Drehung muss stärker sein, wenn die Lösung $^1/_2$ Stunde mit verdünnter Säure gekocht und dann wieder auf das frühere Volumen gebracht wird.

7. Im Gegensatz zu Traubenzucker scheiden Milchzuckerlösungen beim Kochen mit einer verdünnten Lösung von essigsaurem Kupfer und Essigsäure kein Kupferoxydul ab.

8. 5 g Milchzucker werden mit 20 ccm concentrirter Salpetersäure erwärmt und nach Beendigung der sehr stürmischen Entwicklung von rothen Dämpfen, das Reaktionsproduct längere Zeit kalt gestellt. Es scheidet sich eine krystallinische Masse, Schleimsäure aus. Sie wird völlig getrocknet in Ammoniak gelöst und die Lösung auf dem Wasser-

bad zur Trockne gebracht. Die trockne Substanz im Reagensglas erhitzt giebt Pyrrol, dessen Dämpfe einen mit Salzsäure benetzten Fichtenspahn dunkelroth färben. Traubenzucker giebt beim Behandeln mit conc. Salpetersäure nur Oxalsäure, keine Schleimsäure. —

Ausser aus dem schon erwähnten verschiedenen Gehalt des Fettes an flüchtigen Fettsäuren bei verschiedenen Thieren, lässt sich nach Pfeiffer durch das Verhalten beim Kochen und der Art der Gerinnung auf die Art der Milch schliessen.

Colostrum gerinnt beim Kochen in grossen Fetzen, alte Kuhmilch oder alte Ziegenmilch in derben, sich rasch zusammenballenden Flocken, Eselinnen- und Stutenmilch in einer zarten, in einer milchig getrübten Flüssigkeit schwimmenden Flöckchen.

Frische Kuhmilch, Ziegenmilch, Schafsmilch, Eselinnenmilch und Stutenmilch wenige Wochen nach der Geburt, Menschenmilch gerinnen durch Kochen nicht. Letztere auch nicht auf Zusatz von verdünnter (2 pCt.) Salzsäure. Die übrigen gerinnen bei Salzsäurezusatz und zwar Eselinnen- und Stutenmilch wie oben erwähnt in zarten Flöckchen, Kuh-, Ziegen- und Schafsmilch in derben, in fast klarer Flüssigkeit schwimmenden Flocken.

Quantitative Untersuchungsmethoden.

I. Bestimmung des specifischen Gewichts.

Absolut genaue Bestimmungen des spec. Gewichts müssen mit dem Pycnometer durch Wägung ausgeführt werden. Die Pycnometer sind für eine bestimmte Temperatur geaicht und dürfen die Bestimmungen nur bei diesen vorgenommen werden. Man ertheilt der Milch und dem Instrument den erforderlichen Wärmegrad durch Einsetzen in temperirtes Wasser. Da die Milch leicht Fett an ihrer Oberfläche absetzt, „aufrahmt", ist sie vor jeder Bestimmung gut durchzuschütteln.

Das Pycnometer wird genau tarirt, mit der Milch gefüllt und gewogen. Ist sein Volumen 10 ccm und wog es nach Abzug der Tara mit Milch gefüllt 0,1035 g, so ist das spezifische Gewicht dieser Milch: $10 \times 0{,}1035 = 1{,}035$.

Zu weniger genauen Bestimmungen bedient man sich guter Araeometer (Lactodensimeter). Der Aufrahmung wegen muss möglichst schnell abgelesen werden. Zur Milchuntersuchung geeignete Araeometer müssen eine Eintheilung haben, die die vierte Decimale des spezifischen Gewichts abzulesen gestattet. Die Scala muss von 1,025—1,040 gehen und die Theilstriche für die zweite Decimale mindestens 20—25 mm von einander entfernt sein.

Um ein normales spezifisches Gewicht zu erzielen und damit der polizeilichen Marktcontrolle zu genügen, wird abgerahmte Milch häufig mit Wasser versetzt. Man kann dies ungefähr folgendermassen erkennen: Die in einem schmalen hohen Cylinder befindliche Milch wird gut umgeschüttelt, mit dem Araeometer geprüft und dann zum Aufrahmen 24 Stunden ruhig hingestellt. Nach vorsichtiger Entfernung des Rahms prüft man wieder. Die erste Bestimmung soll bei guter Kuhmilch 1,829—1,033, die zweite 1,0325—1,0365 ergeben. Genaue Anhaltspunkte sind jedoch nur durch die ausführliche chemische Analyse zu erreichen. Man lässt zweckmässig die Milch in einem am Boden mit einem Hahn versehenen Gefäss abrahmen, durch den man die rahmfreie Milch bequem in ein

zweites Gefäss abfliessen lassen und dann mit dem Araeometer prüfen kann.

Der von Quevenne angegebene Apparat, das Lactodensimeter ist ein Araeometer mit einer Scala von 14—42°. Die Grade bezeichnen das spezifische Gewicht (d. h. 14 = spez. Gewicht 1,014), das, wenn die Temperatur 15° C. betrug ohne weiteres abgelesen wird. Für andere Temperaturen muss eine Correction mit Hilfe unten stehender Tabelle eingeführt werden. In derselben bezeichnet die oberste horizontale Reihe die Temperatur der Milch, die linke vertikale die am Lactodensimeter abgelesenen spez. Gewichte. Betrug dies z. B. 30, die Temperatur 16° bei Vollmilch, so ist das corrigirte spec. Gewicht in der Tabelle in der Spalte 9, sechste Ziffer von unten mit 392 = 1,0302 verzeichnet.

Andere Apparate ersparen die Correcturtabelle (Bischoff, Recknagel, Soxhlet u. a.), indem sie mit einem Thermometer versehen sind, das aber keine Temperaturscala anzeigt, sondern die der Temperatur entsprechenden Grade, die von den an der Hauptscala abgelesenen abgezogen oder zugezählt werden müssen. (Fig. 1.)

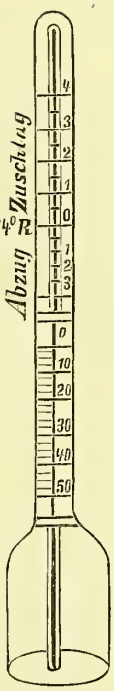

Fig. 1.
Oberer Theil eines Lactodensimeters für Marktpolizei.

Correctionstabelle für das Quevenne'sche Lactodensimeter.
Vollmilch.

	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
14	13,2	13,3	13,4	13,5	13,6	13,7	13,8	14,0	14,1	14,2	14,4	14,6	14,8
15	14,2	14,3	14,4	14,5	14,6	14,7	14,8	15,0	15,1	15,2	15,4	15,6	15,8
16	15,2	15,3	15,4	15,5	15,6	15,7	15,8	16,0	16,1	16,3	16,5	16,7	16,9
17	16,2	16,3	16,4	16,5	16,6	16,7	16,8	17,0	17,1	17,3	17,5	17,7	17,9
18	17,2	17,3	17,4	17,5	17,6	17,7	17,8	18,0	18,1	18,3	18,5	18,7	18,9
19	18,2	18,3	18,4	18,5	18,6	18,7	18,8	19,0	19,1	19,3	19,5	19,7	19,9
20	19,1	19,2	19,3	19,4	19,5	19,6	19,8	20,0	20,1	20,3	20,5	20,7	20,9
21	20,1	20,2	20,3	20,4	20,5	20,6	20,8	21,0	21,2	21,4	21,6	21,8	22,0
22	21,1	21,2	21,3	21,4	21,5	21,6	21,8	22,0	22,2	22,4	22,6	22,8	23,0
23	22,1	22,2	22,3	22,4	22,5	22,6	22,8	23,0	23,2	23,4	23,6	23,8	24,0
24	23,1	23,2	23,3	23,4	23,5	23,6	23,8	24,0	24,2	24,4	24,6	24,8	25,0
25	24,0	24,1	24,2	24,3	24,5	24,6	24,8	25,0	25,2	25,4	25,6	25,8	26,0
26	25,0	25,1	25,2	25,3	25,5	25,6	25,8	26,0	26,2	26,4	26,6	26,9	27,1

	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
27	26,0	26,1	26,2	26,3	26,6	26,6	26,8	27,0	27,2	27,4	27,6	27,9	28,2
28	26,9	27,0	27,1	27,2	27,4	27,6	27,8	28,0	28,2	28,4	28,6	28,9	29,2
29	27,8	27,9	28,1	28,2	28,4	28,6	28,8	29,0	29,2	29,4	29,6	29,9	30,2
30	28,7	28,8	29,0	29,2	29,4	29,6	29,8	30,0	30,2	30,4	30,6	30,9	31,2
31	29,7	29,8	30,0	30,2	30,4	30,6	30,8	31,0	31,2	31,4	31,7	32,0	32,3
32	30,6	30,8	31,0	31,2	31,4	31,6	31,8	32,0	32,2	32,4	32,7	33,0	33,3
33	31,6	31,8	32,0	32,2	32,4	32,6	32,8	33,0	33,2	33,4	33,7	34,0	34,3
34	32,5	32,7	32,9	33,1	33,3	33,5	33,8	34,0	34,2	34,4	34,7	35,0	35,3
35	33,4	33,6	33,8	34,0	34,2	34,4	34,7	35,0	35,2	35,4	35,7	36,0	36,3

Correctionstabelle für abgerahmte Milch.

18	17,3	17,4	17,5	17,6	17,7	17,8	17,9	18	18,1	18,2	18,4	18,6	18,8
19	18,3	18,4	18,5	18,6	18,7	18,8	18,9	19	19,1	19,2	19,4	19,6	19,8
20	19,3	19,4	19,5	19,6	19,7	19,8	19,9	20	20,1	20,2	20,4	20,6	20,8
21	20,3	20,4	20,5	20,6	20,7	20,8	20,9	21	21,1	21,2	21,4	21,6	21,8
22	21,3	21,4	21,5	21,6	21,7	21,8	21,9	22	22,1	22,2	22,4	22,6	22,8
23	22,3	22,4	22,5	22,6	22,7	22,8	22,9	23	23,1	23,2	23,4	23,6	23,8
24	23,2	23,3	23,4	23,5	23,6	23,7	23,9	24	24,1	24,2	24,4	24,6	24,8
25	24,1	24,2	24,2	24,4	24,5	24,6	24,8	25	25,1	25,2	25,4	25,6	25,8
26	25,1	25,2	25,3	25,4	25,5	25,6	25,8	26	26,1	26,3	26,5	26,7	26,9
27	26,1	26,2	26,3	26,4	26,5	26,6	26,8	27	27,1	27,3	27,5	27,7	27,9
28	27,1	27,2	27,3	27,4	27,5	27,6	27,8	28	28,1	28,3	28,5	28,7	28,9
29	28,1	28,2	28,3	28,4	28,5	28,6	28,8	29	29,1	29,3	29,5	29,7	29,9
30	29,1	29,2	29,3	29,4	29,5	29,6	29,8	30	30,1	30,3	30,5	30,7	30,9
31	30,1	30,2	30,3	30,4	30,5	30,6	30,8	31	31,2	31,4	31,5	31,8	32,0
32	31,1	31,2	31,3	31,4	31,5	31,6	31,8	32	32,2	32,4	32,6	32,8	33,0
33	32,1	32,2	32,3	32,4	32,5	32,6	32,8	33	33,2	33,4	33,6	33,8	34,0
34	33,1	33,2	33,3	33,4	33,5	33,6	33,8	34	34,2	34,4	34,6	34,8	35,0
35	34,0	34,1	34,2	34,3	34,4	34,6	34,8	35	35,2	35,4	35,6	35,8	36,0
36	35,0	35,1	35,2	35,3	35,4	35,6	35,8	36	36,2	36,4	36,6	36,9	37,1
37	36,0	36,1	36,2	36,3	36,4	36,6	36,8	37	37,2	37,4	37,6	37,9	38,2
38	37,0	37,1	37,2	37,3	37,4	37,6	37,8	38	38,2	38,4	38,6	38,9	39,2
39	37,9	38,0	38,2	38,3	38,4	38,6	38,8	39	39,2	39,4	39,6	39,9	40,2
40	38,8	38,9	39,1	39,2	39,4	39,6	39,8	40	40,2	40,4	40,6	40,9	41,2

II. Bestimmung der Reaction und der Acidität.

Die Reaction der menschlichen Milch ist im normalen Zustande alkalisch, die der Milch fleischfressender Thiere sauer. Kuhmilch sollte nach früheren Angaben amphotere Reaction zeigen. Sie reagirt im frischen Zustande, in dem Augenblick, wo sie die Milchdrüse verlässt, stets schwach sauer (Vaudin). Die Reaction ändert sich nicht, wenn man die Milch in ein Glasrohr einschmilzt und längere Zeit auf 100°

erhitzt. Sie wird stärker sauer, wenn man Milch bei Luftabschluss oder Luftzutritt stehen lässt. Durch Bacterienwirkung (Gährung) wird der Milchzucker in Milchsäure — gewöhnlich Gährungsmilchsäure; inactive, obwohl auch die Bildung von activer, Paramilchsäure beobachtet ist (Günther und Thierfelder) — und Kohlensäure zuweilen auch Aethylalkohol (Leichmann) zerlegt. Die durch hohe Temperatur begünstigte Säureproduction hört auf, wenn eine bestimmte Menge Milchsäure (0,604 pCt. nach Timpe) gebildet ist, indem die Gährungserreger zu Grunde gehen, wenn ihre Stoffwechselproducte eine gewisse Concentration erreicht haben, wodurch ihnen die Lebensbedingungen entzogen werden.

Um von der Stärke der sauren Reaction auf das Alter der Milch zu schliessen, muss die Anfangsreaction bekannt sein. Ist die Säuerung so weit vorgeschritten, dass man sie schmeckt, so beginnt bald darauf das Casein zu gerinnen und die Milch ist zweifellos alt und verdorben. Vorher erkennt man das Alter, d. h. die Zunahme der Säure durch folgende Proben: Alte Milch gerinnt beim Einleiten von Kohlensäure und nachherigem Kochen. Später genügt Kochen ohne Einleitung von Kohlensäure und endlich wird Gerinnung durch Einleitung von Kohlensäure allein ohne Kochen hervorgerufen. Zuweilen gerinnt auch ganz frische Milch, namentlich im Beginn der Lactationsperiode, durch Aufkochen, das entstehende Gerinnsel besteht aber in diesen Fällen nicht aus Casein, sondern aus Albumin (ev. Globulin). Will man dies nachweisen, so versetzt man die fragliche Probe mit einigen Tropfen einer Lösung von Natriumphosphat bis zur gerade noch sauren Reaction und kocht auf. Gerinnung kann nur herrühren von Albumin, die Milch ist frisch. Tritt andrerseits Gerinnung jetzt nicht ein, während sie vorher beim Aufkochen ohne Zusatz von Natriumphosphat konstatirt wurde, so war das Gerinnsel Casein, die Gährung hatte unter Bildung von Milchsäure begonnen, die Milch ist alt. Gerinnsel, das durch Kochen alkalisch oder neutral reagirender Milch entsteht ist stets Albumin.

Zur quantitativen Bestimmung des Säuregehalts einer Milchprobe titrirt man mit verdünnter Natronlauge von bekanntem Gehalt:

10 ccm Milch werden mit etwa 90 ccm destillirtem Wasser gut gemischt und mit ein bis zwei Tropfen einer als Indicator dienenden concentrirten alkoholischen Phenolphtaleïnlösung versetzt. Aus einer in $^1/_{10}$ ccm getheilten Bürette lässt man tropfenweise $^1/_{10}$ oder $^1/_5$ Normal-Natronlauge unter fortwährendem Umrühren zufliessen, bis die Flüssigkeit eine deutlich röthliche Färbung zeigt (Phenolphtaleïn wird durch Alkali roth gefärbt). Die Operation wird mit einer zweiten Portion Milch wiederholt und das Mittel der beiden Titrationen, die höchstens um 0,1 ccm

differiren dürfen, angegeben, d. h. der Säuregehalt wird in Cubikcentimetern der angewandten Natronlauge ausgedrückt. (Man verlasse sich nicht auf eine Titration!)

Nach Pfeiffer sind die Säuremengen für die verschiedenen Milcharten je nach Jahreszeit, Klima u. a. Verhältnissen verschieden, so dass sich Grenzwerthe nicht aufstellen lassen.

„Jeder Beobachter muss in seinem Kreise sich durch Untersuchungen von völlig unverdächtiger Milch, am besten von Stallproben, Mittelzahlen schaffen, welche ihn bei der Beurtheilung der Milch leiten können" (Pfeiffer).

Ein ungefähres Urtheil über das Alter einer (rohen!) Milch kann man sich durch Bestimmung der Acidität in folgender Weise verschaffen: 25 ccm Milch werden mit einigen Tropfen Phenolphtaleïn versetzt und mit Barytlösung wie oben bis zur eben beginnenden Röthung titrirt. Von der Barytlösung muss 1 ccm 0,005 g SO_3 entsprechen, d. h. sie muss im Liter 10,89 g Bariumhydrat enthalten. Bei frischer Milch tritt die Röthung nach Zusatz von etwa 17 ccm Barytlösung ein. Die Acidität bleibt bei 10° 48, bei 15° 20 und bei 37° etwa 5 Stunden konstant. Milch, die also nach 1 stündigem Stehen im Brütofen eine Zunahme der Acidität konstatiren lässt, ist nicht frisch und als Nahrung für Kinder zu verwerfen.

Auch erhält man einen Anhalt für die Beurtheilung des Alters einer Milch, wenn man mit derselben ein Eudiometerrohr füllt (d. i. ein an einem Ende geschlossenes graduirtes Glasrohr), mit Quecksilber die Luft absperrt und beobachtet, ob sich in dem oberen Theil des Eudiometers Gasblasen zeigen. Reine frische Milch darf nach 12 Stunden keine nennenswerthen Mengen Gas entwickeln (Schaffer).

III. Bestimmung der Trockensubstanz.

Ein Platintiegel mit Deckel — in Ermangelung eines solchen kann man sich auch eines Porzellantiegels bedienen — wird genau tarirt, mit 5 oder 10 ccm gut durchgeschüttelter Milch beschickt und im Trockenschrank bei 100° getrocknet. Der Deckel wird so aufgelegt, dass das verdampfende Wasser entweichen kann, ohne dass Staub in den Tiegel gelangt. Nach 15—20 Stunden wird der im Exsiccator über Schwefelsäure abgekühlte, gut bedeckte Tiegel gewogen, wieder in den Trockenschrank gebracht und nach etwa einer halben Stunde wieder gewogen. Ist zwischen der ersten und zweiten Wägung keine Differenz, so ist die Bestimmung fertig, im entgegengesetzten Fall wird das Trocknen fortgesetzt, bis das Gewicht des Tiegels constant ist. Aus der Differenz der Gewichte des leeren und des den Rückstand enthaltenden Tiegels

berechnet sich die Trockensubstanz. Zieht man vor die zu untersuchende Milchprobe abzuwägen statt abzumessen, so muss natürlich das Gewicht des Tiegels plus Milch durch eine besondere Wägung bestimmt werden.

Das Eintrocknen der Milch unter Zusatz poröser Substanzen wie Gyps, Bimstein, Sand oder Aufsaugen durch Papier ist nicht zu empfehlen und der sich meist an die Trockenbestimmung anschliessenden Veraschung hinderlich.

Durch langes Erhitzen färben sich die Eiweisskörper der Milch (Renck), sowie der sich caramelisirende Milchzucker braun (Renck, Cazeneuve und Haddon), wodurch der Trockenrückstand stets eine gelblichbraune Farbe bekommt. Eine Fehlerquelle liegt hierin nicht.

Der Trockenrückstand ist sehr hygroskopisch und der Tiegel daher bei der Wägung gut bedeckt zu halten.

IV. Bestimmung der Salze.

Zur Bestimmung der Asche, d. h. der mineralischen Bestandtheile, benutzt man zweckmässig den bei der Feststellung der Trockensubstanz erhaltenen Rückstand.

Derselbe wird im bedeckten Tiegel zur schwachen Rothglut erhitzt und ist nach ein bis zwei Stunden zu einer rein weissen Asche verbrannt. Tiegel und Inhalt lässt man im Exsiccator abkühlen und wägt. Soll in der Asche die Menge der Phosphorsäure bestimmt werden, so verascht man am besten nicht unter 20 ccm Milch. Die Asche wird in ganz verdünnter Salpetersäure gelöst und mit soviel molybdaensaurem Ammonium gefällt, dass auf 1 Theil Phosphorsäure mindestens 40 Theile Molybdänsäure kommen. Es entsteht ein gelber Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak, den man 12 Stunden bei etwa 40° stehen lässt, dann durch ein kleines Filter filtrirt und das klare Filtrat prüft, ob durch weiteren Zusatz von molybdänsaurem Ammonium noch ein Niederschlag entsteht. Ist dies auch nach längerem Stehen nicht der Fall, so wäscht man den Niederschlag auf dem Filter mit 10 pCt. Ammoniumnitratlösung so lange aus, bis die durchlaufende Flüssigkeit keine saure Reaction mehr zeigt, übergiesst ihn mit einigen Tropfen verdünntem warmen Ammoniak und spült das Filter mit stark verdünntem Ammoniak gründlich ab. Die klare eventuell zu filtrirende Lösung des phosphormolybdänsauren Ammoniaks sammelt man in einem Becherglas, versetzt mit Ammoniumchlorid (etwa $^1/_6$ d. Vol.) und dann unter Umrühren mit Magnesiamischung so lange ein Niederschlag entsteht, fügt schliesslich noch einen geringen Ueberschuss von Magnesiamischung zu und lässt 12 Stunden in der Kälte stehen. Der Niederschlag von phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia

wird nach dieser Zeit abfiltrirt und mit verdünntem Ammoniak (1 Ammoniak 3 Wasser) gewaschen, bis eine Probe des salpetersauer gemachten Filtrates mit Silbernitratlösung keine Trübung mehr giebt. Das Filter wird dann bei 100° getrocknet, der Niederschlag so weit wie möglich abgeschabt, erst das Filter im tarirten Porzellantiegel verbrannt, dann der Rest der Magnesia zugefügt und stark geglüht. Hierbei entsteht unter Entweichen von Ammoniak und Wasser pyrophosphorsaure Magnesia, die, falls sie nach dem Erkalten grau aussieht, mit einigen Tropfen Salpetersäure befeuchtet und nochmals dem Glühen unterworfen wird, wodurch man ein rein weisses Präparat enthält. 1 Theil pyrophosphorsaures Magnesium entspricht 0,6396 Theilen Phosphorsäure.

Molybdänsaures Ammonium bereitet man sich folgendermassen: 100 g reine Molybdänsäure werden in 400 g Ammoniakflüssigkeit von 0,960 Spec. Gew. (= 10 pCt. NH_3) gelöst und diese Lösung in 1500 g Salpetersäure vom spec. Gew. 1,2 unter fortwährendem Umschütteln eingegossen. Die Mischung wird etwa eine Stunde bei höchstens 50° auf dem Wasserbad erwärmt, dann 2—3 Tage an einen mässig warmen Ort gestellt und von eventuell in geringer Menge vorhanden gewesener abgeschiedener Phosporsäure abfiltrirt.

Magnesiamischung: 55 g Magnesiumchlorid und 105 g Ammoniumchlorid werden in Wasser gelöst, mit 350 ccm Ammoniakflüssigkeit (24 pCt. vom Spec. Gew. 0,91) versetzt und auf 1 Liter aufgefüllt. Nach einigen Tagen wird die gut verschlossen zu haltende Mischung filtrirt.

V. Bestimmung des Fettgehaltes.

Zur Bestimmung des Fettgehaltes der Milch ist eine grosse Anzahl von Methoden vorgeschlagen. Doch haben bei sorgfältiger Prüfung nur wenige sich den alten bewährten ebenbürtig erwiesen. Von den zu beschreibenden Verfahren ist das Liebermann-Weiss'sche wegen seiner leichten Ausführbarkeit besonders zu empfehlen. Die Soxhlet'sche araeometrische Methode, zwar nur für Kuhmilch anwendbar, ist vorzüglich und ohne jede Schwierigkeit mit geringstem Zeitaufwand auszuführen, der erforderliche Apparat allerdings nicht allzu billig.

A. Gewichtsanalytische Methode nach Soxhlet.
(Anwendbar für alle Milchsorten.)

10 ccm werden in einer kleinen Porzellanschale mit so viel reinem, vorher ausgeglühtem Seesand versetzt, dass dieselbe fast ganz aufgesaugt wird, dann die Schale auf dem Wasserbade unter fleissigem Umrühren erhitzt, bis der Sand trocken zu sein scheint. Das wird nach etwa

$^1/_2$ Stunde der Fall sein. Das Umrühren hat den Zweck, ein Festkleben von fettigen Sandtheilchen an der Gefässwand zu verhindern. Der Schaleninhalt wird sorgfältig quantitativ entleert und mit Hilfe eines gefalteten Glanzpapierbogens in einen sogleich zu beschreibenden Extractionsapparat gebracht. Die Schale selbst, sowie das zum Rühren benutzte Stäbchen und das Papier werden zum Schluss mit Aether abgespült, letzterer in den Extractionsapparat gegeben.

Der Soxhlet'sche Extractionsapparat (Fig. 2) besteht aus einem weiten Glasrohr a, das von der offenen oberen Seite aus mit dem zu extrahirenden Körper beschickt wird. Sein unteres verschlossenes Ende ist mit einer dünnen, mehrfach gebogenen Röhre b versehen, die zuerst senkrecht nach oben bis zur Mitte des Rohres a geht, dann sich umbiegt, bei c einen an dem weiteren Rohr angeblasenen etwa $1^1/_2$ cm weiten Glasansatz d durchdringt und dann sich bis zu dessen Ende nach unten zieht. Der Ansatz d steht durch ein Rohr e mit dem oberen weiten Theil a in Verbindung. Das untere geschlossene Ende des Rohres a wird mit einer etwa 2 cm hohen festen Schicht durch Benzin entfetteter Watte bedeckt, auf dieser die Substanz gebracht und dann der ganze Apparat durch einen gut schliessenden Korkstopfen mit einem kleinen weithalsigen Kölbchen von 150 ccm Inhalt verbunden, das etwa zur knappen Hälfte mit Aether gefüllt ist. Das offene Ende des Extractionsapparates wird luftdicht — ebenfalls durch einen Korkstopfen — mit einem Liebig'schen Kühler (g) verbunden. Wird nun das Kölbchen durch ein Wasserbad erwärmt, so passiren die sich entwickelnden Aetherdämpfe durch den Ansatz d und das Rohr e, werden im Kühler g kondensirt und tropfen auf die zu extrahirende Substanz. Infolge der Communication der Rohre a und b steht der Aether in beiden gleich hoch. Hat er den höchsten Punkt des Rohres b bei h überschritten, so wirkt dasselbe als Heber und der Aether, nun mit Fett aus der Substanz gesättigt, fliesst in das Kölbchen f zurück. Dort verdampft er von Neuem und dasselbe Spiel wiederholt sich.

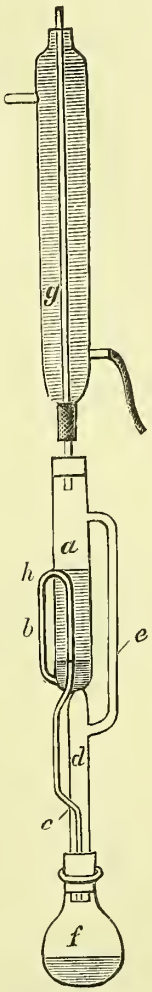

Fig. 2.
Extractionsapparat
nach Soxhlet.

Man regulirt die Wärme des Wasserbades zweckmässig so, dass innerhalb einer Stunde sich das Rohr a etwa 40 mal füllt. Nach dieser

Zeit kann man die Extraction als beendigt ansehen. Die Temperatur des Wasserbades darf nicht zu hoch sein, da sonst die zu stürmisch sich entwickelnden Aetherdämpfe im Kühler nicht kondensirt werden und ein grosser Theil des Aethers verloren geht. Die Menge desselben muss so gewählt sein, dass sie das Rohr a bis zum Ansatz des Rohres b (bei h) mindestens $1^1/_2$ mal ausfüllen kann. Die Verbindung der einzelnen Theile des Apparats muss durch gut schliessende Korke hergestellt sein oder sie sind aufeinander passend aufgeschliffen.

Die im Kölbchen enthaltene Aetherfettlösung wird durch Erwärmen auf einem Wasserbad von Aether befreit und im Trockenschrank bei 105° zur Gewichtskonstanz getrocknet. War das Gewicht des leeren Kölbchens vorher festgestellt, so ergiebt sich aus der Differenz der beiden Wägungen ohne weiteres der Fettgehalt der Milch. Anstatt mit Sand auf dem Wasserbade einzudampfen, was immerhin einige Zeit dauert, empfehlen Fernandez-Krug und Hampe 5 oder 10 ccm Milch mit 7,5 resp. 15 g gepulvertem Kaolin und 5 resp. 10 g wasserfreiem Natriumsulfat zu mischen. Man erhält so in der Kälte eine völlig trockne Masse, die man ohne weiteres mit Aether extrahiren kann.

Pfeiffer fällt aus der Milch die Eiweissstoffe und das Fett aus, filtrirt durch Faltenfilter, wäscht auf demselben einige Male mit Wasser aus, trocknet bei 100° und bringt Filter sammt Niederschlag in den Soxhlet'schen Extractionsapparat. Zur Abscheidung des Fettes mit den Eiweisskörpern bedient man sich zweckmässig der weiter unten beschriebenen Fällungen mit Trichloressigsäure oder Kupferoxydhydrat.

B. Extraction des Fettes durch Petroläther nach Liebermann-Weiss.

Liebermann und Szekely und Weiss wenden zur Fettbestimmung den Petrolaether an. Die Methode ist für Kuh- und Menschenmilch brauchbar und ohne grosse Hülfsmittel schnell ausführbar. 50 ccm Milch werden in einem etwa 15 cm hohen Cylinder von 4 cm Durchmesser, der sich durch einen Kork- oder Glasstopfen luftdicht verschliessen lässt, mit 5 ccm Kalilauge oder Natronlauge versetzt, einige Male durchgeschüttelt, 50 ccm Petrolaether (niedrig siedend) und 50 ccm Alkohol (96 pCt.) hinzugefügt. Diese Mischung wird zwei bis dreimal je 3 Minuten geschüttelt und dann eine halbe bis eine Stunde ruhig stehen gelassen. Die oberste der drei erkennbaren klar sich absetzenden Schichten besteht aus Petrolaether, der das gesammte Fett enthält. Mit Hülfe einer Pipette lassen sich aliquote Theile desselben abheben; der Petrolaether wird in gewogenenen Kölbchen verdunstet, der Fettrückstand bei 100° getrocknet und gewogen. Mit Hilfe einfacher Rechnung findet man den Procent-

gehalt an Fetten der Milch. Hat man z. B. 25 ccm Petrolätherlösung abpipettirt und verdunstet und 1,0 g Fett gewogen, so enthalten 100 Theile Milch; $1 \times 2 \times 2 = 4$ pCt. Fett.

Die Methode hat den Vortheil, dass man mehrere Kontrollversuche mit derselben ursprünglichen Milchmenge anstellen kann. Sie ist namentlich, wo eine grössere Anzahl von Fettbestimmungen auszuführen ist, warm zu empfehlen. Die Resultate sind verglichen mit der Soxhlet'schen araeometrischen und Wägungsmethode sehr gute. Ein ähnliches Verfahren mit guten Resultaten beschreibt Hoppe-Seyler; statt Petrolaether wendet er aber gewöhnlichen Aethyläther an. Liebermann räth hiervon ab, da er gefunden, dass Aethyläther nicht nur Fett, sondern auch andere Milchbestandtheile löst. Zahlreiche Versuche ergaben mir keine irgendwie erhebliche Differenzen zwischen beiden Extractionsmitteln, doch scheint sich der (billigere) Petroläther schneller abzusetzen wie der Aethylaether. Jedenfalls sind die beschriebenen Methoden von den gewichtsanalytischen bei weitem die einfachsten, und am schnellsten auszuführenden.

C. Soxhlet's araeometrische Methode.
(Nur für Kuhmilch anwendbar.)

Die Methode beruht auf dem Princip der Bestimmung des spezifischen Gewichtes der aetherischen Fettlösung. Eine bestimmte Menge Milch wird mit Kalilauge und Aether versetzt, durch Schütteln das Fett vom Aether aufgenommen und in einem geeigneten Apparat das spec. Gewicht der Lösung ermittelt.

Zur Ausführung sind folgende Reagentien und Utensilien erforderlich:

1. Kalilauge vom spec. Gew. 1,27. (400 g Aetzkali werden in Wasser gelöst, die Lösung nach dem Erkalten zu 1 Liter aufgefüllt.)
2. Aether mit $^1/_{10}$ — $^2/_{10}$ Vol. Wasser durchgeschüttelt und dann klar abgegossen.
3. Gewöhnlicher Aether.
4. Ein Gefäss von etwa 4 Liter Inhalt mit Wasser von 17 — 18° C.
5. Eine Pipette von 200 ccm, eine von 60 ccm und eine von 10 ccm Inhalt.
6. Mehrere Milchflaschen von $^1/_2$ Liter Inhalt.
7. Zwei feine Aräometer mit Thermometer in einem mit Wasserkühlung versehenen Glasgefäss, eins für Magermilch, eins für Vollmilch.
8. Ein Kautschuckgebläse.

Die Milch wird zunächst durch Einsetzen in das temperirte Wasser auf 18° gebracht und gut umgeschüttelt. Dann werden mit der Pipette 200 ccm derselben in eine Milchflasche gebracht, mit 10 ccm Kalilauge

versetzt umgeschüttelt, 60 ccm wasserhaltiger Aether hinzugefügt, die Flasche schnell geschlossen, wieder umgeschüttelt und $^1/_4$ Stunde in Wasser von 18° gestellt, dabei von halber zu halber Minute durchgeschüttelt. (3 — 4 senkrechte Stösse). In dieser Zeit hat sich die Aetherfettlösung gewöhnlich klar abgesetzt, sehr fettreiche Milch erfordert längere Zeit.

Zur Erläuterung der Ausführung der Bestimmung dient Figur 3.

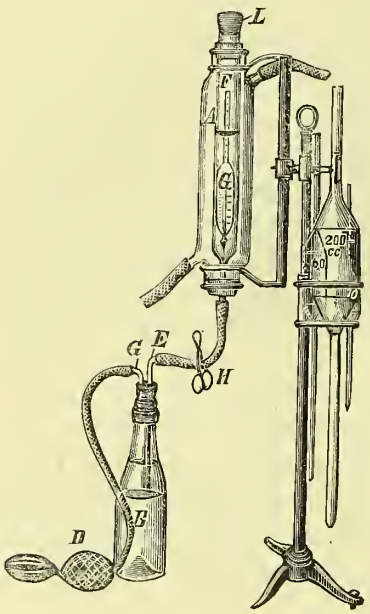

Fig. 3.

Man füllt das Kühlgefäss A mit Wasser von 18°C. und versieht die die Aetherfettlösung enthaltende Milchflasche (B) mit einem doppeltdurchbohrten Stopfen, durch dessen eine Bohrung ein kurzes bis dicht unter denselben reichendes, rechtwinkliges Glasrohr (C) geht, das seinerseits mit dem Gebläse D verbunden ist. Durch die andere Bohrung geht ein bis in den untersten Theil der klaren Aetherfettlösung reichendes ebenso gebogenes Rohr E, das mit dem unteren Ende des Gefässes F, in dem das Aräometer G sich befindet, durch einen Gummischlauch verbunden ist. Der Schlauch lässt sich mit einem Quetschhahn K abstellen.

Es wird nun der Stopfen L des Gefässes G gelüftet, die Klemmschraube H geöffnet und durch Druck auf das Gebläse Aetherfettlösung in G hineingetrieben, bis das Aräometer schwimmt, dann schnell K geschlossen und der Apparat durch eine am Fuss befindliche Schraube genau senkrecht eingestellt. Aräometer und Thermometer werden genau abgelesen und mit Hülfe untenstehender Tabelle der Fettgehalt ermittelt. Beträgt die Temperatur 17,5° C. so ist keine Correctur nöthig. Sonst ist für jedes Zehntel Grad mehr zur Ablesung des Aräometers 1° hinzuzufügen, für jedes Zehntel weniger 1° abzuziehen.

Bei sehr fettarmer Milch setzt sich zuweilen keine klare Aetherfettlösung ab, sondern es bildet sich eine gallertartige Masse. Soxhlet setzt in solchem Fall der Milch vor der Mischung mit Aether 20 bis 25 Tropfen einer Seifenlösung zu, die zweckmässig so bereitet wird, dass 15 g Stearinsäure[1]) mit etwa 25 ccm 96 proc. Alkohols und 10 ccm

1) Man kann hierzu eine gewöhnliche Stearinkerze benutzen!

der oben angegebenen Kalilauge auf dem Wasserbade erwärmt werden, bis eine klare gelbliche Lösung entsteht, die mit destillirtem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt wird.

Fettgehalt der Vollmilch in Gew.-Proc. nach dem spec. Gewicht der Aetherfettlösung bei 17,5° C. nach Soxhlet.

Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %
43,0	2,07	47,7	2,61	52,3	3,16	56,9	3,74	61,5	4,39
43,1	2,08	47,8	2,62	52,4	3,17	57,0	3,75	61,6	4,40
43,2	2,09	47,9	2,63	52,5	3,18	57,1	3,76	61,7	4,42
43,3	2,10	48,0	2,64	52,6	3,20	57,2	3,78	61,8	4,44
43,4	2,11	48,1	2,66	52,7	3,21	57,3	3,80	61,9	4,46
43,5	2,12	48,2	2,67	52,8	3,22	57,4	3,81	62,0	4,47
43,6	2,13	48,3	2,68	52,9	3,23	57,5	3,82	62,1	4,48
43,7	2,14	48,4	2,70	53,0	3,25	57,6	3,84	62,2	4,50
43,8	2,16	48,5	2,71	53,1	3,26	57,7	3,85	62,3	4,52
43,9	2,17	48,6	2,72	53,2	3,27	57,8	3,87	62,4	4,53
44,0	2,18	48,7	2,73	53,3	3,28	57,9	3,88	62,5	4,55
44,1	2,19	48,8	2,74	53,4	3,29	58,0	3,90	62,6	4,56
44,2	2,20	48,9	2,75	53,5	3,30	58,1	3,91	62,7	4,58
44,3	2,22	49,0	2,76	53,6	3,31	58,2	3,92	62,8	4,59
44,4	2,23	49,1	2,77	53,7	3,33	58,3	3,93	62,9	4,61
44,5	2,24	49,2	2,78	53,8	3,34	58,4	3,95	63,0	4,63
44,6	2,25	49,3	2,79	53,9	3,35	58,5	3,96	63,1	4,64
44,7	2,26	49,4	2,80	54,0	3,37	58,6	3,98	63,2	4,66
44,8	2,27	49,5	2,81	54,1	3,38	58,7	3,99	63,3	4,67
44,9	2,28	49,6	2,83	54,2	3,39	58,8	4,01	63,4	4,69
45,0	2,30	49,7	2,84	54,3	3,40	58,9	4,02	63,5	4,70
45,1	2,31	49,8	2,86	54,4	3,41	59,0	4,03	63,6	4,71
45,2	2,32	49,9	2,87	54,5	3,43	59,1	4,04	63,7	4,73
45,3	2,33	50,0	2,88	54,6	3,45	59,2	4,06	63,8	4,75
45,4	2,34	50,1	2,90	54,7	3,46	59,3	4,07	63,9	4,77
45,5	2,35	50,2	2,91	54,8	3,47	59,4	4,09	64,0	4,79
45,6	2,36	50,3	2,92	54,9	3,48	59,5	4,11	64,1	4,80
45,7	2,37	50,4	2,93	55,0	3,49	59,6	4,12	64,2	4,82
45,8	2,38	50,5	2,94	55,1	3,51	59,7	4,14	64,3	4,84
45,9	2,39	50,6	2,96	55,2	3,52	59,8	3,15	64,4	4,85
46,0	2,40	40,7	2,97	55,3	3,53	59,9	4,16	64,5	4,87
46,1	2,42	50,8	2,98	55,4	3,55	60,0	4,18	64,6	4,88
46,2	2,43	50,9	2,99	55,5	3,56	60,1	4,19	64,7	4,90
46,3	2,44	51,0	3,00	55,6	3,57	60,2	4,20	64,8	4,92
46,4	2,45	51,1	3,01	55,7	3,59	60,3	4,21	64,9	4,93
46,5	2,46	51,2	3,03	55,8	3,60	60,4	4,23	65,0	4,95
46,6	2,47	51,3	3,04	55,9	3,61	60,5	4,24	65,1	4,97

Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %
46,7	2,49	51,4	3,05	56,0	3,63	60,6	4,26	65,2	4,98
46,8	2,50	51,5	3,06	56,1	3,64	60,7	4,27	65,3	5,00
46,9	2,51	51,6	3,08	56,2	3,65	60,8	4,29	65,4	5,02
47,0	2,52	51,7	3,09	56,3	3,67	60,9	4,30	65,5	5,04
47,1	2,54	51,8	3,10	56,4	3,68	61,0	4,32	65,6	5,05
47,2	2,55	51,9	3,11	56,5	3,69	61,1	4,33	65,7	5,07
47,3	2,56	52,0	3,12	56,6	3,71	61,2	4,35	65,8	6,09
47,4	2,57	52,1	3,14	56,7	3,72	61,3	4,36	65,9	5,11
47,5	2,58	52,2	3,15	56,8	3,73	61,4	4,37	66,0	5,12
47,6	2,60								

Fettgehalt der Magermilch in Gew.-Proc. nach dem spec. Gewicht der Aetherfettlösung bei 17,5° C. nach Soxhlet.

Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %
21,1	0,00	25,5	0,41	29,9	0,82	34,3	1,22	38,7	1,64
21,2	0,01	25,6	0,42	30,0	0,83	34,4	1,23	38,8	1,65
21,3	0,02	25,7	0,43	30,1	0,84	34,5	1,24	38,9	1,66
21,4	0,03	25,8	0,44	30,2	0,85	34,6	1,24	39,0	1,67
21,5	0,04	25,9	0,45	30,3	0,86	34,7	1,25	39,1	1,68
21,6	0,05	26,0	0,46	30,4	0,87	34,8	1,26	39,2	1,69
21,7	0,06	26,1	0,47	30,5	0,88	34,9	1,27	39,3	1,70
21,8	0,07	26,2	0,48	30,6	0,88	35,0	1,28	39,4	1,71
21,9	0,08	26,3	0,49	30,7	0,89	35,1	1,29	39,5	1,72
22,0	0,09	26,4	0,50	30,8	0,90	35,2	1,30	39,6	1,73
22,1	0,10	26,5	0,50	30,9	0,91	35,3	1,31	39,7	1,74
22,2	0,11	26,6	0,51	31,0	0,92	35,4	1,32	39,8	1,75
22,3	0,12	26,7	0,52	31,1	0,93	35,5	1,33	39,9	1,76
22,4	0,13	26,8	0,53	31,2	0,94	35,6	1,33	40,0	1,77
22,5	0,14	26,9	0,54	31,3	0,95	35,7	1,34	40,1	1,78
22,6	0,15	27,0	0,55	31,4	0,95	35,8	1,35	40,2	1,79
22,7	0,16	27,1	0,56	31,5	0,96	35,9	1,36	40,3	1,80
22,8	0,17	27,2	0,57	31,6	0,97	36,0	1,37	40,4	1,81
22,9	0,18	27,3	0,58	31,7	0,98	36,1	1,38	40,5	1,82
23,0	0,19	27,4	0,59	31,8	0,99	36,2	1,39	40,6	1,83
23,1	0,20	27,5	0,60	31,9	1,00	36,3	1,40	40,7	1,84
23,2	0,21	27,6	0,60	32,0	1,01	36,4	1,41	40,8	1,85
23,3	0,22	27,7	0,61	32,1	1,02	36,5	1,42	40,9	1,86
23,4	0,23	27,8	0,62	32,2	1,03	36,6	1,43	41,0	1,87
23,5	0,24	27,9	0,63	32,3	1,04	36,7	1,44	41,1	1,88

Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %	Spec. Gew.	Fett %
23,6	0,25	28,0	0,64	32,4	1,05	36,8	1,45	41,2	1,89
23,7	0,25	28,1	0,65	32,5	1,05	36,9	1,46	41,3	1,90
23,8	0,26	28,2	0,66	32,6	1,06	37,0	1,47	41,4	1,91
23,9	0,27	28,3	0,67	32,7	1,07	37,1	1,48	41,5	1,92
24,0	0,28	28,4	0,68	32,8	1,08	37,2	1,49	41,6	1,93
24,1	0,29	28,5	0,69	32,9	1,09	37,3	1,50	41,7	1,94
24,2	0,30	28,6	0,70	33,0	1,10	37,4	1,51	41,8	1,95
24,3	0,30	28,7	0,71	33,1	1,11	37,5	1,52	41,9	1,96
24,4	0,31	28,8	0,72	33,2	1,12	37,6	1,53	42,0	1,97
24,5	0,32	28,9	0,73	33,3	1,13	37,7	1,54	42,1	1,98
24,6	0,33	29,0	0,74	33,4	1,14	37,8	1,55	42,2	1,99
24,7	0,34	29,1	0,75	33,5	1,15	37,9	1,56	42,3	2,00
24,8	0,35	29,2	0,76	33,6	1,15	38,0	1,57	42,4	2,01
24,9	0,36	29,3	0,77	33,7	1,16	38,1	1,58	42,5	2,02
25,0	0,37	29,4	0,78	33,8	1,17	38,2	1,59	42,6	2,03
26,1	0,38	29,5	0,79	33,9	1,18	38,3	1,60	42,7	2,04
25,2	0,39	29,6	0,80	34,0	1,19	38,4	1,61	42,8	2,05
25,3	0,40	29,7	0,80	34,1	1,20	38,5	1,62	42,9	2,06
25,4	0,40	29,8	0,81	34,2	1,21	38,6	1,63	43,0	2,07

D. Methoden, die nur annähernd genaue Resultate geben.

Zur schnellen Fettbestimmung hat man eine ganze Reihe von Methoden und Apparaten vorgeschlagen, die aber meistens nur mässigen Anforderungen an Genauigkeit genügen. Hierher gehören die Cremometer, Lactoskope, erstere auf dem Principe der Messung der abgesetzten Rahmschicht der Milch, letztere auf optischen Methoden beruhend, die Lactokrite und andere. Die Rahmmesser (Cremometer) würden brauchbare Zahlen geben, wenn Milch von gleichem Fettgehalt, in einem geeigneten Gefäss unter gleichen Bedingungen aufgestellt, gleiche Volumina Rahm von gleichem Fettgehalt ausscheiden würde. Dies ist aber nicht der Fall, vielmehr haben auf die Abrahmung z. B. Temperatur, Art des Gefässes, Beschaffenheit der Milch Einfluss. So setzt z. B. mit Wasser verdünnte Milch verhältnissmässig mehr Rahm ab als die gleiche unverdünnte Milch, weil die Fettkügelchen in der wässrigen Milch leichter in die Höhe steigen können, als in der spezifisch schwereren reinen.

Ebenso sind die optischen Methoden für genauere Untersuchungen abzulehnen. Die Durchsichtigkeit der Milch steht in gewisser Abhängigkeit von der Zahl der in ihr enthaltenen Fettkügelchen. Es wird also die Undurchsichtigkeit einer Milchschicht um so stärker sein, je grösser

die Anzahl der in ihr enthaltenen Fettkügelchen ist. Wäre nun die Zahl der Fettkügelchen proportional dem Fettgehalt, so liesse sich gegen die auf der Durchsichtigkeit der Milch gegründeten Bestimmungen nichts einwenden. Dies ist aber nicht der Fall. Die optischen Methoden haben ausserdem noch den Nachtheil, dass sie von der individuellen Auffassung der einzelnen Person abhängig sind. Es ist naturgemäss jedes Auge nicht gleich empfindlich für die zu erkennenden Helligkeitsunterschiede, ferner haben die äusseren Verhältnisse, unter denen die Probe angestellt wird, Einfluss. Selbst für ein und dasselbe Auge wird die Empfindlichkeit bei hellem Sonnenlicht eine andere sein, als bei trübem Wetter, bei künstlicher Beleuchtung eine andere wie bei Oberlicht u. s. f. Sind die beschriebenen Methoden für genaue Zwecke also nicht anwendbar, so sind sie doch oft geeignet als Vorprüfungen, auf deren verdächtige Resultate hin genaue Untersuchungen anzustellen sind. Sie leisten daher, um auf eine eventuelle Verfälschung aufmerksam zu machen, dem Arzt, Apotheker und besonders dem Polizeibeamten gute Dienste, um so mehr, da sie ohne besondere Fertigkeiten vom Laien ausgeführt werden können. Sie sind, was nochmals hervorgehoben werden soll, nicht geeignet, ein endgiltiges Urtheil abzugeben.

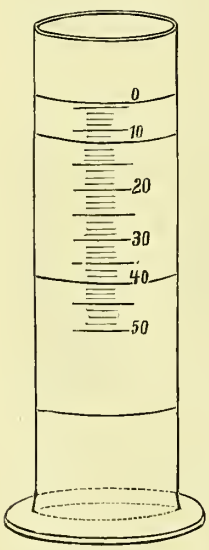

Fig. 4,
Cremometer nach
Chevalier.

Das Cremometer von Chevalier (Fig. 4) besteht aus einem 20 cm hohen Glascylinder von 4 cm lichter Weite und 160 ccm Rauminhalt. Derselbe ist mit einer hunderttheiligen Skala so versehen, dass der Nullpunkt 5 cm unter dem oberen Rande liegt. Die Eintheilung ist gewöhnlich nur bis 50° durchgeführt. Nachdem der mit Milch gefüllte Apparat 4 Stunden in einem Raume bei gleichmässiger mittlerer Temperatur gestanden hat, wird die Rahmschicht abgelesen. Sie beträgt im Durchschnitt bei Vollmilch 10—15 pCt., bei halb abgerahmter 5—8 pCt. Um aus der gefundenen Rahmmenge Schlüsse auf Abrahmung oder Wasserzusatz ziehen zu können, muss man nach dem im Kapitel Spec. Gewicht angegebenen Verfahren das spec. Gewicht der vom Rahm befreiten untenstehenden Milch bestimmen.

Von den auf optischer Methode beruhenden zahlreichen Apparaten ist eins der besten das Lactoskop von Feser (Fig. 5). Ein weites Glasrohr enthält in seinem unterem verengten Theil einen Milchglascylinder, der von der Wand des umgebenden Rohres 4,75 mm entfernt

ist und in bestimmten Abständen mehrere gleichmässig stark schwarze Querlinien eingebrannt enthält. Das umgebende Glasrohr ist mit einer doppelten Skala versehen, die links von 0—200, rechts entsprechend von 0—10 geht. Es wird bis zur Marke 0 mit Hülfe einer 4 ccm haltenden Pipette mit Milch gefüllt und dann unter Umschütteln so lange Wasser zugesetzt, bis die dunklen Querlinien des Milchglascylinders bei auffallendem Licht eben sichtbar werden. Man liest dann oben links das Niveau und rechts den Fettgehalt in Prozenten direct ab.

Fig. 5.
Lactoskop nach Feser.

Etwas bessere — aber auch nicht genaue — Resultate giebt das Lactobutyrometer von Marchand-Tollens. In einem engen Glasrohr werden 10 ccm mit Essigsäure angesäuerte Milch mit 10 ccm Aether tüchtig durchgeschüttelt und das Rohr nach Zusatz von 10 ccm Alkohol (96°) einige Zeit in Wasser von 40° C. gestellt. Das im Aether gelöste Fett scheidet sich aus und sammelt sich an der Oberfläche. An der eingebrannten Skala wird die Höhe der Fettschicht abgelesen und aus der dem Apparat beigegebenen Tabelle der Prozentgehalt der Milch an Fett berechnet. In grossen Molkereibetrieben bedient man sich ausschliesslich zur Fettbestimmung ähnlicher Methoden. Die Milch wird mit geeigneten Säuregemischen versetzt, z. B. Essigsäure und Schwefelsäure (Laval's Lactokrit) in graduirte Röhren gefüllt und durch Centrifugiren in grossen Apparaten, die in der Minute 6—7000 Umdrehungen machen, das Fett als zusammenhängende, ablesbare Schicht ausgeschleudert. Diese Verfahren mit Hülfe von Centrifugalkraft (Laval, Gerber, Demichel, Röse-Gottlieb u. A.) geben für die Technik völlig brauchbare Resultate, sind aber wegen ihrer kostspieligen maschinellen Einrichtungen nur für grosse Betriebe zu verwerthen, wo

Fig. 6.
Lactobutyrometer nach Marchand-Tollens.

es besonders darauf ankommt in kurzer Zeit eine möglichst grosse Anzahl von Bestimmungen zu machen.

VI. Bestimmung der Eiweisskörper.

A. Bestimmung des Gesammtstickstoff (nach Kjeldahl).

10 ccm Milch werden in einem Rundkolben von hartem, schwerschmelzbarem Glase mit 15 ccm reiner concentrirter Schwefelsäure allmälig und unter fleissigem Umschwenken gemischt und 0,1 ccm metallisches Quecksilber oder 0,5 g Quecksilberoxyd hinzugefügt. Der Kolben wird dann auf einem Drahtnetz schräg liegend zuerst mit kleiner Flamme, allmälig stärker erhitzt und schliesslich der Inhalt etwa $1^1/_2$ Stunden im Sieden erhalten. Man erhält eine gelbliche fast klare Lösung, die den gesammten Stickstoff der Milch in Form von schwefelsaurem Ammoniak enthält und wie später angegeben weiter verarbeitet wird.

Zu der eben beschriebenen Operation verwendet man zweckmässig Kolben von 150—200 ccm Inhalt mit langem (etwa 15 cm) Hals. Bei kleineren riskirt man durch starkes Kochen und event. Stossen und Spritzen des Inhalts Verluste, grössere brauchen zur quantitativen Reinigung zu viel Flüssigkeit. Das Erhitzen auf dem Sandbad ist nicht zu empfehlen, da die Kolben leicht durch den Sand kleine Risse bekommen und weniger wiederstandsfähig werden und sich auch die Wärme schlecht reguliren lässt. Statt Quecksilber kann man entwässertes Kupfersulfat (0,5 g) verwenden, doch muss man dann zur völligen Ueberführung des Stickstoffs in Ammoniak 20 Stunden mit Schwefelsäure kochen gegen $1—1^1/_2$ Stunden bei Anwendung von Quecksilber (Munk). Vielfach wird empfohlen die Substanzen mit Schwefelsäure und Schwefelsäureanhydrid oder Schwefelsäure und Phosphorsäureanhydrid oder auch mit Schwefelsäure und Kaliumbichronat zu erhitzen, doch haben zahlreiche Versuche gezeigt, dass für die Untersuchung der Milch reine Schwefelsäure vorzügliche Dienste leistet.

Der völlig erkaltete Inhalt des Kolbens wird in eine Kochflasche von 1 Liter Inhalt übergeführt (der Kolben mehrere Male mit destillirtem Wasser nachgespüllt, um jede Spur der schwefelsauren Lösung zu entfernen) mit einer starken Messerspitze Talkum und 10 ccm einer wässrigen 50proc. Lösung von Schwefelkalium zur Zersetzung des entstandenen Quecksilberamids[1]) und so viel reiner Natronlauge versetzt,

1) Bei Anwendung von Kupfersulfat ist ein Zusatz von Schwefelkalium nicht nöthig.

dass ein hineingeworfenes Lackmuspapier deutlich blau wird. Bei dem Eingiessen der Natronlauge ist Erwärmung (eventuell durch Eintauchen der Kochflasche in kaltes Wasser) zu vermeiden, damit nicht frei gewordenes Ammoniak entweicht. Die Flüssigkeit, die die Kochflasche höchstens bis zur Hälfte füllen darf, wird nun unter Vorlage eines Liebig'schen Kühlers bis auf $^1/_3$ ihres Volumens abdestillirt, und das entweichende Ammoniak in einer bekannten Menge titrirter Säure aufgefangen. Durch den Zusatz von Talkum wird ein Stossen des Kochflascheninhalts völlig vermieden. Um ein Mitreissen von Flüssigkeitstheilchen zu verhindern, bedient man sich zweckmässig des Stutzer-Rietmeyer'schen oder König'schen Sicherheitsrohrs. Man kann auch das Ammoniak durch Einleiten von Wasserdampf austreiben. In diesem Fall hat der Stopfen der Kochflasche eine doppelte Durchbohrung: Durch die eine geht das kurze Sicherheitsrohr, durch die andere ein langes etwa 2 Ctm. über dem Boden endigendes rechtwinklig gebogenes Glasrohr, das mit einem kochendes Wasser enthaltenden Gefäss verbunden ist. Als Vorlage zur Absorption des Ammoniaks dient entweder eine sogen. Péligot'sche Röhre oder einfacher und billiger ein Erlenmeyer'scher Kolben von 500 ccm Inhalt. Er wird (für 10 ccm Milch ausreichend) mit 25 ccm $^2/_{10}$ Normalschwefelsäure beschickt, die mit einigen Tropfen einer Lösung von Congo oder Rosolsäure oder Cochenille gefärbt ist. Das Ammoniak wird durch ein an dem Kühler sitzendes Glasrohr in die Säure hineingeleitet.

Schwefelsäure ist als Absorptionsflüssigkeit sehr geeignet. Sie ist leicht titrirt zu beziehen und hat den Vorzug, ihren Titer selbst bei langer Aufbewahrung nicht zu ändern. Die als Indicatoren dienenden Farbstoffe verwendet man in folgenden Lösungen: Congo 1 g in 1 Ltr. Wasser, wird durch Ammoniak blau, Cochenille 3 g in 50 ccm Alkohol und 200 ccm Wasser, durch Alkali resp. Ammoniak, violett, Rosolsäure 2 g in 1 Ltr. 50 proc. Alkohols durch Ammoniak oder Alkali. Lackmus ist nicht zu empfehlen.

Der nicht neutralisirte Theil der $^2/_{10}$ Normalschwefelsäure wird mit $^2/_{10}$ Normalkalilauge zurücktitrirt und aus der Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter Säure der Stickstoffgehalt berechnet. 1 ccm $^2/_{10}$ n. Schwefelsäure entspricht 0,0034 g Ammoniak = 0,0028 g Stickstoff.

Um eine grössere Anzahl von Bestimmungen zu gleicher Zeit machen zu können, sind verschiedene Apparate konstruirt worden (Hefter, Holbrung und Morgen, Kreusler u. A.), von denen der folgende vielfach Verwendung findet:

Eine eiserne Platte mit 6 im Kreise herum liegenden und mit Drahtnetz überzogenen Vertiefungen dient zum Erhitzen der Kölbchen mit

Schwefelsäure. In der Mitte befindet sich ein kleiner eiserner Ständer, welcher eine Blechplatte mit 6 runden Ausschnitten trägt. In diesen Ausschnitten liegen die Hälse der schräg in den Drahtnetzen stehenden Kölbchen. Zum Erhitzen dient ein rundes Gasrohr mit sechs durch Hähne regulirbaren Bunsenbrennern. Zur Destillation wird ein einfaches, aus starkem Eisenblech angefertigtes Gestell mit 6 durch Drahtnetze bedeckten Ausschnitten benutzt, in denen die Destillationskolben stehen. Sie können durch sechs an einem geeignet gebogenen Gasrohr befindliche Brenner erhitzt werden. Als Kühler dient ein grosser viereckiger Blechkasten, der auf einem eisernen Gestell ruht und von kaltem Wasser durchflossen wird. Durch denselben gehen sechs mit Kautschukstopfen dicht eingesetzte weite Glasröhren.

Aus dem gefundenen Gesammtstickstoff berechnet man den Eiweissstickstoff durch Multiplikation mit 0,94 für Kuhmilch und 0,91 für Frauenmilch. Da die Eiweissstoffe der letzteren (Casein + Globulin + Albumin) aschefrei berechnet, 15,76 pCt. N enthalten, erhält man aus dem Eiweissstickstoff durch Multiplikation mit 6,34 den Eiweissgehalt; bei der Kuhmilch durch Multiplikation mit 6,37 (Munk).

B. Methoden der Eiweissfällung.

Wenn es nicht darauf ankommt die genaue Vertheilung des Stickstoffs auf die einzelnen Verbindungen zu ermitteln, wie bei Stoffwechseluntersuchungen, Handelsanalysen, Marktproben, so hat man in der Bestimmung des Gesammtstickstoffs nach Kjeldahl eine ausgezeichnete, durchaus genaue Methode. Zur directen Ermittelung der Eiweisskörper sind in den Lehrbüchern eine ganze Anzahl von Verfahren angegeben, (die Alkoholfällung, Fällung mit Essigsäure nach Hoppe-Seyler, mit Kupfersulfat und Natronlauge nach Ritthausen, Tanninfällung), die durch die von J. Munk neuerdings ausgearbeiteten und verbesserten an Einfachheit und Genauigkeit überholt sind. Es werden daher nur diese ausgezeichnete Resultate gebenden Methoden besprochen werden, die sich für alle Milchsorten gleich gut eignen. Dieselben beruhen darauf, dass sämmtliche Eiweisskörper ausgefällt werden und im Niederschlag der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt wird. Eine gleiche Bestimmung im Filtrat giebt den nicht in Form von Eiweisskörpern enthaltenen, den sogenannten Extractivstickstoff.

Um jede Spur Eiweiss aus der Milch auszufällen, eignen sich vorzüglich Tannin und Kochsalz in der Kälte, (Sebelien), Kupferoxydhydrat in der Siedehitze (Ritthausen-Stutzer) und Trichloressigsäure in der Kälte (Bondsczinsky).

1. Tanninfällung.

10 ccm Milch werden mit 90 ccm Wasser verdünnt, in einem Becherglas (250 ccm) mit etwa 5 ccm einer gesättigten wässrigen Kochsalzlösung[1]) und einem Ueberschuss von Tannin oder Alméu'scher Lösung (5 g Tannin, 5 ccm 50 proc. Essigsäure, 200 ccm 30—50 proc. Alkohol) versetzt. Der hierdurch entstehende Niederschlag setzt sich ziemlich schnell ab, die über demselben stehende eiweissfreie klargelbe Flüssigkeit wird durch ein schwedisches Filter gegossen, der Niederschlag mit destillirtem Wasser einige Male decantirt und schliesslich auf dem Filter ausgewaschen, bis ein Tropfen des Filtrats keine Chlorreaction mehr zeigt, das heisst durch einen Tropfen Salpetersäure und Silbernitrat nicht mehr getrübt wird. Das Auswaschen dauert ziemlich lange, da der säurehaltige Eiweissniederschlag die Filterporen verklebt und schwer durchlässig macht. Durch das öftere Decantiren im Becherglas wird diesem Uebelstande etwas abgeholfen. Niederschlag sammt Filter[2]) werden nun in einen Kjehldahl-Kolben gebracht, mit Schwefelsäure behandelt und in der oben geschilderten Weise der Stickstoff bestimmt. Aus dem Eiweissstickstoff erhält man durch entsprechende Rechnung den Eiweissgehalt. (Vergl. oben.)

2. Modificirte Ritthausen'sche Methode (Munk).

Die Eiweisskörper werden durch Stutzer'sches Kupferoxydhydrat in der Siedehitze gefällt und in ihnen nach Kjeldahl der Stickstoff bestimmt.

Das Kupferoxydhydrat bereitet man wie folgt: 100 g kristallisirtes chemisch reines Kupfersulfat wird in 5 Liter Wasser gelöst, mit 2,5 g Glycerin versetzt und durch Zusatz von verdünnter Natronlauge das Kupfer als Kupferhydroxyd oder Kupferoxydhydrat gefällt. Letzteres wird abfiltrirt (das Filtrat muss, wenn alles Kupfer ausgefüllt sein soll, farblos sein: ist es blau, so muss noch Natronlauge zugesetzt werden), durch Anreiben mit mit 0,5 pCt. Glycerin versetztem Wssser aufgeschlemmt und durch Dekantiren und Filtriren vom Alkali befreit. Das Präparat wird dann mit Wasser, dem 10 pCt. Glycerin zugesetzt sind, verrieben und so verdünnt, dass es sich bequem mit der Pipette aufsaugen lässt. Es ist in verschlossenen blauen oder braunen Flaschen aufzubewahren. Seinen Gehalt an Kupfer bestimmt man durch Eindampfen eines abgemessenen Volumens und Wägung des geglühten Rückstandes.

Um mit dem Stutzer'schen Präparat die Eiweisskörper der Milch

1) Sehr wenig Salze enthaltende Flüssigkeiten (z. B. Menschenmilch) werden durch Gerbsäure ohne Kochsalzzusatz nur unvollkommen gefällt.

2) Den Stickstoffgehalt des schwedischen Filtrirpapiers bringt man mit $^1/_2$ mg in Anrechnung.

zu fällen, muss letztere erst mit Alaunlösung versetzt werden, zur Bindung der in ihr enthaltenen Alkaliphosphate. Es würde sonst eine Umsetzung eintreten, der Art, dass aus Kupferoxydhydrat und phosphorsaurem Alkali, phosphorsaures Kupfer und freies Alkali entstände, welches letztere Eiweiss auflösen und die Bestimmung ungenau machen würde. Es wird durch den Alaunzusatz das Alkaliphosphat unschädlich gemacht unter Bildung von unlöslichem Aluminiumphosphat und schwefelsaurem Alkali.

Es werden demnach 10 ccm Milch in einem 250 ccm fassenden Becherglas mit Wasser auf 100 (bei Frauenmilch auf 60) verdünnt, erhitzt, 2 ccm gesättigte Alaunlösung, und wenn die Flüssigkeit zu sieden beginnt, 5 ccm Stutzer'sches Kupferhydrat zugefügt und die Mischung 5 Minuten im Sieden erhalten. Der rasch sich absetzende Niederschlag wird mit heissem Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat keine Schwefelsäurereaction mehr zeigt (Trübung der salzsauren Lösung durch Chlorbaryum) und in bekannter Weise nach Kjeldahl verarbeitet.

Die Reaction der verdünnten Milch ist vor dem Kupferzusatz zu prüfen. Ist sie alkalisch, so wird sie durch vorsichtigen Säurezusatz genau neutralisirt, da freies Alkali, wie oben schon erwähnt, Eiweiss lösen und an der Fällung durch Kupfer hindern würde.

Aus dem gefundenen Stickstoffwerth berechnet man wie angegeben den Eiweissgehalt.

3. Fällung mit Trichloressigsäure (Bondzynski).

10 ccm Milch werden mit 50 ccm Wasser verdünnt und in der Kälte mit 10 ccm einer 15 proc. wässrigen Trichloressigsäurelösung gefällt. Sämmtliche Eiweisskörper werden abgeschieden. Den Niederschlag lässt man einige Stunden stehen, wäscht mit verdünnter Chloressigsäure aus und verarbeitet ihn dann wie bei den oben beschriebenen Methoden nach Kjeldahl.

VII. Bestimmung des Milchzuckers.

Für die Bestimmung des Milchzuckers kommen drei Methoden in Betracht: 1. Titrirung mit Fehling'scher Lösung, 2. Gewichtsanalytische Bestimmung nach Soxhlet-Allihn, 3. Ermittlung der Circularpolarisation.

A. Titrirung mit Fehling'scher Lösung.

Zur Ausführung der Titrirung muss die Milch von den Eiweisskörpern befreit werden. Man verwendet hierzu zweckmässig das Filtrat der nach Munk-Ritthausen (Seite 27) gefällten Eiweisskörper, mischt

die gesammelten Waschwässer und das Filtrat gut und bringt auf ein geeignetes Volumen (etwa 200 ccm). Einen aliquoten Theil titrirt man dann mit Fehling'scher Lösung von bekannter Reductionsfähigkeit. Dieselbe wird folgendermassen hergestellt:

I. 34,639 g reines krystallisirtes Kupfersulfat werden unter Erwärmen in Wasser gelöst und die Lösung nach dem Erkalten auf genau 500 ccm aufgefüllt.

II. 173 g reines krystallisirtes Seignettesalz (weinsaures Kalium-Natrium) und 50 g chemisch reines Natriumhydrat werden jedes für sich in destillirtem Wasser gelöst, die Lösungen vereinigt und auf 500 ccm gebracht.

Zum Gebrauch werden gleiche Volumina I. und II. gemischt. Da sich die Mischung beider mit der Zeit zersetzt, werden die Lösungen getrennt, am besten im Dunkeln in gut verschlossenen Flaschen aufbewahrt.

Man verfährt nun folgendermassen: 10 ccm der Kupferlösung und 10 ccm der Seignettesalzlösung werden in einer Porzellanschale gemischt, mit 50 ccm Wasser verdünnt und zum Kochen erhitzt. In die Lösung lässt man aus einer Bürette einige Cubikcentimeter der zuckerhaltigen Flüssigkeit fliessen, notirt die Anzahl derselben, kocht einige Sekunden, lässt absitzen und sieht, ob die über dem abgeschiedenen Kupferoxydul stehende Flüssigkeit noch blau ist. Ist dies der Fall, so fügt man wieder einige Cubikcentimeter hinzu, kocht, beobachtet die Färbung und setzt dies fort, bis der Schaleninhalt farblos ist. Man wiederholt nun die Titrirung und lässt, wenn vorher zwischen der letzten und vorletzten Ablesung mehrere Cubikcentimeter lagen, zunächst so viel Cubikcentimeter zufliessen, als die vorletzte Ablesung angab und titrirt dann tropfenweise zu Ende. Es empfiehlt sich mindestens dreimal die Operation zu wiederholen.

Die Entfärbung der Flüssigkeit ist oft wegen mangelhafter Abscheidung schwer zu erkennen. Die Anstellung der früher empfohlenen Tüpfelprobe mit Ferrocyankalium zur Erkennung der Endreaction ist zu verwerfen. Man darf auch nicht allzu lange warten, bis sich der Niederschlag ev. völlig abgesetzt hat, da leicht das ausgeschiedene Kupferoxydul durch den Sauersloff der Luft zu Oxyd oxydirt wird und sich in der alkalischen Lösung wieder mit blauer Farbe löst. Ist also die Endreaction nicht gut zu erkennen, so filtrirt man schnell eine Probe der Flüssigkeit durch ein kleines Faltenfilter in ein Reagensglas und beobachtet, ob das Filtrat gegen einen weissen Hintergrund gehalten noch blau erscheint. Wenn dies der Fall, giesst man es in die Schale

zurück und titrirt weiter. Ist das Filtrat gelb gefärbt, so ist zuviel von der zuckerhaltigen Flüssigkeit zugesetzt.

In der verbrauchten Menge der Zuckerlösung ist entsprechend 20 ccm Fehling'scher Lösung 0,134 g Milchzucker enthalten. Hatte man also z. B. von 10 ccm Milch ausgehend, nach Abscheidung des Fettes und Eiweisses das Filtrat auf 200 ccm gebracht und davon zur Reduction der 20 ccm Fehling'scher Lösung 50 ccm gebraucht, so enthielt die Milch $4 \times 0{,}134 \times 10 = 5{,}36$ pCt. Milchzucker.

Für nicht absolut genaue, vergleichende Bestimmungen besonders für Zwecke der Handelsanalyse, Nahrungsmitteluntersuchung, für klinische Zwecke eignet sich die Titrirmethode wegen ihrer schnellen Ausführbarkeit sehr gut. Handelt es sich jedoch um Ermittelung ganz scharfer Werthe, so ist die gewichtsanalytische Methode anzuwenden. Zur Titerstellung und Kontrolle der Fehling'schen Lösung bedient man sich einer Lösung von chemisch reinem Milchzucker oder auch Traubenzucker. Von letzterem werden 0,1 g durch 20 ccm Fehling reduzirt.

B. Gewichtsanalytische Bestimmung nach Soxhlet-Allihn.

Auch zu dieser Bestimmung ist die Entfernung von Eiweiss und Fett aus der Milch nöthig und wird zweckmässig das auf 200 ccm gebrachte Filtrat der modificirten Ritthausen'schen Eiweissbestimmung (+ Waschwässer!) benutzt. Bei Anwendung von 10 ccm Milch enthält dieses etwa 0,2 pCt. Milchzucker, die nach Soxhlet's Untersuchungen günstigste Concentration für die Reduction. 100 ccm des Filtrats werden mit 50 ccm der nach oben gegebener Vorschrift bereiteten Fehling'schen Lösung versetzt und in einer Porzellanschale etwa 10 Minuten (Soxhlet) im Sieden erhalten. Nach dieser Zeit ist die Reduction beendet und das ausgeschiedene Kupferoxydul zu filtriren. Da dasselbe leicht durch das Filter läuft, sind die verschiedensten Verfahren zur Filtration angegeben (Soxhlet, Allihn, Pfeiffer). Es gelingt diese Operation leicht und glatt bei Anwendung von gehärteten Filtern der Firma Schleicher u. Schüll, Düren. Das genau in den Trichter passende Filter wird mit kochendem Wasser durchtränkt, dann die über dem Kupferoxydul stehende heisse Flüssigkeit vorsichtig, ohne den Niederschlag aufzurühren, aufgegossen, letzterer mit kochendem Wasser mehrere Male decantirt, die klare überstehende Flüssigkeit durchfiltrirt und das Filter gründlich ausgewaschen. Endlich wird der Niederschlag selbst auf das Filter gebracht und ebenfalls einige Male heiss gewaschen. Bei sorgfältigem Arbeiten gelingt es fast immer das Kupferoxydul, ohne dass es durch das Filter geht, auf demselben zu sammeln, ist aber erst etwas durchgelaufen, so thut man gut, eine neue Bestimmung anzufangen. Von Wichtigkeit ist

es aus dem Filter bevor sich der Niederschlag darauf befindet, jede Spur überflüssiger Fehling'scher Lösung zu entfernen und diesen so lange durch Decantiren auszuwaschen, bis die Flüssigkeit keine alkalische oder Kupferreaction (Rothfärbung der salzsauren Lösung durch Ferrocyankalium) mehr zeigt. Soxhlet und Allihn benutzen zur Filtration mit Asbest beschickte Kugelröhren.

Niederschlag mit Filter werden bei 100° getrocknet und in einem getrockneten und gewogenen Porzellantiegel geglüht, bis das Filter völlig verbrannt ist. Dann wird die Flamme gelöscht, das Kupferoxydul mit einer dichten Lage Schwefelpulver bedeckt, der Tiegel mit einem mit Gaszuleitungsrohr (Rose'scher Tiegel) versehenen Deckel bedeckt, Wasserstoffgas so lange durchgeleitet, bis man annehmen darf, dass die Luft verdrängt ist, und darauf 15 Minuten im Wasserstoffstrom geglüht. Hierdurch wird das Kupferoxydul in Schwefelkupfer verwandelt und als solches gewogen. Vom Gewicht zieht man die bekannte Filterasche ab und berechnet aus unten stehender Tabelle den Milchzucker.

Man kann auch das Kupferoxydul ohne Schwefelzusatz im Wasserstoffstrom glühen und das entstandene metallische Kupfer wägen. Oder man filtrirt von vornherein das ausgefällte Kupferoxydul durch ein getrocknetes und gewogenes Filter, trocknet bei 100° zum constanten Gewicht und bestimmt aus der Differenz der beiden Wägungen die Menge des Kupferoxyduls. Noch einfacher ist es, nach dem Verbrennen des Filters den abgekühlten Tiegelinhalt mit einigen Tropfen conc. Salpetersäure zu befeuchten, die Säure vorsichtig zu verdampfen und das gebildete Kupfernitrat zu glühen. Es bildet sich schwarzes Kupferoxyd, welches gewogen und auf Milchzucker berechnet wird. Für sehr genaue Bestimmungen empfiehlt sich immer das Glühen im Wasserstoffstrom und Bestimmung als Schwefelkupfer oder metallisches Kupfer. In der folgenden Tabelle sucht man diejenige Zahl, die gegen die gefundene Zahl für Schwefelkupfer oder metallisches Kupfer die nächst niedrige ist, zieht sie von der gefundenen ab und multiplicirt den Rest mit dem nebenstehenden Factor. Diese Zahl addirt man zu der in der Tabelle angegebenen Zahl für Zucker. Z. B.: Es sind gefunden 0,2046 g metallisches Kupfer. Die nächst niedere Zahlt ist 0,2040 g, dazu gehörig 0,150 g Milchzucker und der Factor 0,78. Demnach entspricht die gefundene Menge Kupfer $[(0{,}2046 - 0{,}2040) \times 0{,}78] + 0{,}150 = [0{,}0006 \times 0{,}78] + 0{,}150 = 0{,}1505$. 1 g Kupferoxydul entspricht 0,8876 g, 1 g Kupferoxyd 0,7079 g metallischem Kupfer.

Gefundenes Schwefelkupfer.	Factor für 1 mgr Schwefelkupfer.	Gefundenes metall. Kupfer.	Factor für 1 mgr metall. Kupfer.	Milchzucker.
0,1733	0,60	0,1383	0,76	0,100
0,1816	0,60	0,1449	0,76	0,105
0,1899	0,60	0,1515	0,76	0,110
0,1981	0,60	0,1581	0,76	0,115
0,2064	0,60	0,1648	0,76	0,120
0,2147	0,61	0,1714	0,77	0,125
0,2229	0,61	0,1779	0,77	0,130
0,2308	0,61	0,1844	0,77	0,135
0,3390	0,61	0,1910	0,77	0,140
0,2472	0,61	0,1975	0,77	0,145
0,2553	0,62	0,2040	0,78	0,150
0,5634	0,62	0,2106	0,78	0,155
0,2715	0,62	0,2171	0,78	0,160
0,2795	0,62	0,2235	0,78	0,165
0,2876	0,62	0,2300	0,78	0,170
0,2957	0,62	0,2364	0,78	0,175
0,3037	0,62	0,2428	0,78	0,180
0,3118	0,62	0,2493	0,78	0,185
0,3119	0,62	0,2557	0,78	0,190
0,3280	0,62	0,2621	0,78	0,195
0,3360	0,62	0,2686	0,78	0,200
0,3441	0,62	0,2750	0,78	0,205
0,3522	0,62	2,2815	0,78	0,210
0,3602	0,62	0,2879	0,78	0,215
0,3693	0,62	0,2944	0,78	0,220
0,3764	0,62	0,3008	0,78	0,225
0,3844	0,62	0,3072	0,78	0,230
0,3925	0,62	0,3137	0,78	0,235
0,4005	0,62	0,3201	0,78	0,240
0,4087	0,62	0,3266	0,78	0,245
0,4167	0,62	0,3330	0,78	0,250
0,4248	0,65	0,3391	0,82	0,255
0,4324	0,65	0,3452	0,82	0,260
0,4401	0,65	0,3513	0,82	0,265
0,4477	0,65	0,3575	0,81	0,270
0,4554	0,68	0,3636	0,86	0,275
0,4627	0,68	0,3694	0,86	0,280
0,4700	0,68	0,3752	0,86	0,285
0,4773	0,68	0,3811	0,86	0,290
0,4846	0,68	0,3869	0,86	0,295
0,4919	0,68	0,3921	0,86	0,300

C. Bestimmung durch Ermittlung der Circularpolarisation.

50 ccm Milch werden in einem etwa 150 ccm fassenden Kolben mit 25 ccm neutraler Bleiacetatlösung versetzt, tüchtig durchgeschüttelt und bis zum Sieden erhitzt. Um ein Entweichen von Flüssigkeit zu verhindern, wird der Kolben mit Kork, der ein 50 cm langes als Rückflusskühler dienendes Glasrohr trägt, verschlossen. Nach einmaligem Aufkochen lässt man den Kolbeninhalt völlig erkalten und filtrirt durch ein trocknes Filter. Das Filtrat muss absolut klar sein und eventuell mehrere Male filtrit werden. Mit der Flüssigkeit füllt man ein 200 mm langes Beobachtungsrohr so, dass keine Luftblasen darin sind und bestimmt zweckmässig bei 20° mit einem Polarisationsapparat den Drehungswinkel. Die spezifische Drehung des Milchzuckers bei 20° ist für Natriumlicht + 52,53°; es enthalten 100 ccm Milch, wenn der abgelesene Winkel α und das 2. Beobachtungsrohr 200 mm lang ist:

$$\alpha \cdot \frac{100}{52,53} \cdot \frac{3}{2} \cdot \frac{1}{2} = \alpha \cdot 1{,}4277 \text{ g Milchzucker.}$$

Die Polarisation kann man mit dem Landolt'schen Halbschattenapparat vornehmen. Das Beobachtungsrohr wird zunächst mit destillirtem Wasser gefüllt eingelegt und der Nullpunkt festgestellt, d. i. der Punkt, bei dem beide Hälften des Gesichtsfeldes genau gleich hell sind. Ist dies durch eine Reihe von Ablesungen geschehen, so fügt man die Röhre mit der zu untersuchenden Flüssigkeit ein und dreht so lange bis die nun verschieden hellen Hälften wieder gleiche Helligkeit zeigen. Durch mehrere Versuche ermittelt man, um wie viel Grad gedreht werden musste.

VIII. Bestimmung der Citronensäure.

Die Bestimmung dieser Säure kann bei den gewöhnlichen Handels-Analysen unterbleiben, da aus ihrer Menge Schlüsse auf die Güte der Milch nicht zu ziehen sind.

Zur Isolirung bedarf man einer grösseren Menge Milch, etwa 20 Ltr. Man entrahmt sie, lässt coaguliren, klärt das Serum durch Kochen mit Bleiessig, filtrirt, fällt das Filtrat mit Bleiacetat und zersetzt den entstandenen Niederschlag mit Schwefelwasserstoff. Das Filtrat vom Schwefelblei wird eingedampft, nach dem Erkalten mit Aether extrahirt. Die ätherische Lösung wird verdampft, der Rückstand im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet und gewogen. (Vaudin.)

Eine von A. Scheibe angegebene Titrirmethode der Citronensäure beruht auf der Fällung der Säure durch alkoholisches Ammoniak und Titrirung des Triammoniumcitrats mit Chromsäure. Letztere wird zu

Chromoxyd reduzirt, die Citronensäure zu Kohlensäure und Wasser oxydirt. Eine Ferrosulfatlösung, die in dem Augenblick, wo die Citronensäure zersetzt ist, von der disponiblen Chromsäure zu Eisenoxydsulfat oxydirt und an ihrem Verhalten gegen Ferricyankalium erkannt wird, zeigt das Ende der Titration an. (Eisenoxydsalze geben mit Ferricyankalium keinen, mit Eisenoxydulsalzen einen blauen Niederschlag, bez. eine blaue Färbung.) Die Ausführung geschieht folgendermassen:

„400 ccm Milch[1]) werden mit 4 ccm $2^1/_2$ Normalschwefelsäure gemischt, aufgekocht, 10 g spanische Klärerde mit Wasser zum dicken Schleim angerührt und zugefügt, wieder aufgekocht, nach Erkalten mit Wasser zu $^1/_2$ Ltr. aufgefüllt, filtrirt (ist das Filtrat nicht klar, so wird nochmals mit spanischer Klärerde behandelt). Zu 100 ccm vom Filtrat wird soviel Barytwasser gefügt, dass die zugesetzte Schwefelsäure gerade gesättigt wird, dann zum Syrup abgedampft. Der möglichst homogene Syrup wird mit 3,2 ccm der $2^1/_2$ Normalschwefelsäure versetzt, dann 20 ccm absoluter Alkohol hinzugefügt und nach kurzem Absitzenlassen 60 ccm Aether zugemischt. Die Mischung wird durch Baumwolle filtrirt, wodurch der krystallinisch abgeschiedene Milchzucker völlig entfernt wird. Das Filtrat wird mit alkoholischem Ammoniak versetzt bis zur bleibenden Trübung, dann der Aether abdestillirt, so dass ungefähr 20 ccm Flüssigkeit restiren, dann 60 ccm absoluter Alkohol zugefügt und durch 10 ccm alkoholisches Ammoniak die Citronensäure als Triammoniumverbindung abgeschieden. Der beim Stehen sich gut abscheidende krystallinische Niederschlag enthält die ganze Citronensäure und etwas Chlorammonium, auch ein wenig organischer Substanz, die durch Wiederholung der Fällung entfernt wird.

Das citronensaure Ammoniak wird in Wasser gelöst und auf 20 ccm Lösung concentrirt, dann mit Kaliumbichromat titrirt. Eine Lösung, welche 46,1 g Kaliumbichromat im Liter enthält, wird eingestellt gegen eine Lösung von 150 g Ferrosum-Ammoniumsulphat aufgelöst in 700 ccm Wasser, mit 100 ccm concentrirter Schwefelsäure versetzt und zu 1 Ltr. aufgefüllt. 20 ccm Eisenlösung mit 80 ccm Wasser verdünnt, verbrauchen 7,7—8 ccm Bichromatlösung zur völligen Oxydation. Für die Titrirung der Citronensäure werden 20 ccm der Citronensäurelösung mit 20—30 ccm Bichromatlösung und 20—25 ccm concentrirter Schwefelsäure vorsichtig unter Umrühren versetzt, nach etwa $^1/_4$stündigem Erhitzen (darf nicht zum Sieden gesteigert werden) ist die Kohlensäure-Entwicklung zu Ende. Man verdünnt mit 50 ccm

1) Nach Hoppe-Seyler's Handbuch der Physiologisch- und Pathologisch-Chemischen Analyse. VI. Aufl. S. 471.

Wasser, setzt Ammon-Ferrosumsulfat im Ueberschuss zu, bis die braune Farbe in Grün übergegangen ist, und titrirt nun mit Bichromat zurück bis Ferricyankalium kein Ferrosum mehr anzeigt. Theoretisch sollten 4,61 g Bichromat 1 g Citronensäure entsprechen. Die Titrirungen haben jedoch ergeben, dass in praxi 4,61 g Kaliumbichromat 1,02 g Citronensäure entsprechen. Ein Gehalt der Milch an Milchsäure ist für diese Titrirung ohne Nachtheil, weil diese Säure durch alkoholisches Ammoniak nicht gefällt wird.“

Nachweis von Conservirungsmitteln.

Um die Milch vor dem „Sauerwerden“ zu schützen und den Consumenten über ihre Frische zu täuschen wird eine Reihe von Präparaten als Conservirungsmittel benutzt. Hat diese Conservirung den Zweck, Milchproben, die zur Untersuchung kommen sollen, vor der Gerinnung zu schützen, wie z. B. solche, die in heissen Sommermonaten einen langen Transport auszuhalten haben, so lässt sich dagegen nichts einwenden, wird sie aber für zum Genuss bestimmte Milch angewandt, so ist vom hygienischen Standpunkte Einspruch geboten. Solche Milch ist als Nahrungsmittel zu verwerfen, ganz besonders aber als Kindernahrungsmittel, trotz aller gegentheiligen Behauptungen als schädlich und unbrauchbar anzusehen.

Die bedenkliche Wirkung der Conservirungsmittel liegt grade darin, dass sie meist die Gerinnung hemmen oder verhindern, also kein Urtheil über das Alter, d. h. auch über die Brauchbarkeit der mit ihnen versetzten Milch zulassen. Was den Werth der einzelnen Präparate anbetrifft, so wirken Natriumcarbonat und Natriumbicarbonat überhaupt nicht antibacteriell, ja begünstigen sogar das Wachsthum mancher nur in alkalischen Nährmedien gedeihenden pathogenen Microorganismen (Cholera), Borax und Borsäure wirken gering, Formalin, Salicylsäure gut bacterientödtend, letztere versagt aber z. B. völlig gegen Typhusbacillen. Benzoësäure, Wasserstoffsuperoxyd machen sich erst bei Zusatz von grossen Dosen bemerkbar.

In der Praxis finden wohl nur Verwendung Natriumcarbonat, Borax und Borsänre, Salicylsäure, Benzoësäure, Formalin, Chrom-Quecksilber und Ammoniumsalze, Fluornatrium. Die letzten vier dienen nur analytischen Zwecken, die ersten finden sich häufig in der Milch zweifelhafter Lieferanten und sind daher gut ausgebildete Methoden zu ihrem Nachweis gegeben.

1. Borax, Borsäure.

Zum qualitativen Nachweis werden ca. 100 ccm Milch mit Kalkmilch) alkalisch gemacht, zur Trockne gedampft und verascht. Die hierbei

sich bildende Kohle braucht nicht völlig verbrannt zu werden, man hört mit dem Erhitzen auf, sobald sich keine empyreumatischen Dämpfe mehr entwickeln. Die Asche wird in möglichst wenig concentrirter Salzsäure gelöst, von der Kohle abfiltrirt, zur Trockne gedampft und die überschüssige Salzsäure vollständig verjagt. Der zurückgebliebene weisse Krystallbrei wird mit einigen Tropfen Curcumatinktur und sehr stark verdünnter Salzsäure versetzt und auf dem Wasserbade eingetrocknet. „Bei Gegenwart der geringsten Spur Borsäure erscheint der trockne Rückstand deutlich zinnober- bis kirschroth" (Meissl). Es lassen sich mit der beschriebenen Methode 0,001—0,0005 g Borsäure in der Asche oder 0,001—0,002 pCt. in der Milch mit Sicherheit nachweisen.

Zum Alkalisiren der Milch ist Kalkmilch den Alkalien vorzuziehen. Das schmelzende Alkali schliesst noch nicht verbrannte Partikelchen organischer Substanz ein und erschwert die Veraschung. Zum schliesslichen Eindampfen des auf Borsäure zu prüfenden Krystallbreies muss ganz verdünnte Salzsäure genommen werden, da concentrirte mit Curcumatinktur schon an und für sich eine rothe Färbung giebt. Die Borfärbung unterscheidet sich von der Salzsäurefärbung dadurch, dass sie durch Wasserzusatz in der Kälte nicht, sondern erst nach längerem Kochen verschwindet, leicht löslich ist in Alkohol und dass eine Spur der sauren alkoholischen Lösung die Flamme des Bunsenbrenners intensiv grün färbt infolge Bildung von Borsäureester. Die Salzsäurefärbung verschwindet sofort beim Verdünnen mit Wasser.

Zur quantitativen Bestimmung der Borsäure verfährt man nach Cassal wie folgt: 100 g Milch werden mit Natronlauge alkalisch gemacht, eingedampft und verascht. Die Asche wird mit Wasser und Methylalkohol in einen Erlenmeyer'schen Kolben gespült, dessen Kork doppelt durchbohrt ist. Durch die eine Durchbohrung geht ein mit einem Kühler verbundenes kurz in den Kolbenhals hineinragendes Gasableitungsrohr, durch die andere ein mit Methylalkohol gefüllter Tropftrichter. Der Kolbeninhalt wird mit Essigsäure angesäuert und auf dem Oelbade der Destillation unterworfen. Die Destillationsprodukte werden in einem mit reinem Aetzkalk gefüllten Platintiegel von bekanntem Gewicht aufgefangen, der in einem grösseren Becherglas steht, das mit einer central durchbohrten Glasscheibe zugedeckt ist. Durch die Durchbohrung geht ein an dem freien Ende des Kühlers befindliches gebogenes Glasrohr, bis in den Tiegel hineinreichend. Die Destillation wird mit je 5 ccm Methylalkohol etwa 10 Mal unter Umschütteln wiederholt, dann der Tiegel getrocknet und vor dem Gebläse stark geglüht. Die Gewichtszunahme giebt den Gehalt der 100 cm Milch an Borsäure an.

2. Natriumcarbonat, Natriumbicarbonat.

10 ccm Milch werden mit 10 ccm Alkohol (96°) und mit einigen Tropfen Rosolsäurelösung (1 : 100) gemischt. Reine unverfälschte Milch nimmt eine bräunlichgelbe, mit Natriumcarbonat oder Bicarbonat versetzte eine rosarothe Farbe an. In zweifelhaften Fällen vergleicht man die fragliche Probe mit als sicher unverfälscht bekannter Milch. Die Probe lässt sich nicht ausführen mit Phenolphtaleïnlösung; sie zeigt noch 0,05 pCt. deutlich an (Hilger, E. Schmidt).

3. Salicylsäure.

a) Man säuert 20 ccm Milch mit 2—3 Tropfen Schwefelsäure an und schüttelt mit der ungefähr gleichen Menge Aether. Von der abgesetzten Aetherlösung wird ein möglichst grosser Theil verdunstet, der Rückstand mit 40 proc. Alkohol extrahirt, filtrirt und 5 ccm des Filtrats mit einigen Tropfen Eisenchlorid versetzt. Eine violette Färbung zeigt die Gegenwart von Salicylsäure an. Durch Vergleich mit durch Zusatz von Eisenchlorid gefärbten Salicylsäurelösungen von bekanntem Gehalt kann man sich ein ungefähres Urtheil über die Menge derselben bilden (Remont).

b) 100 ccm Milch werden mit 100 ccm Wasser von 60° mit 8 Tropfen salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt, durchgeschüttelt und der entstandene Niederschlag abfiltrirt. Aus dem Filtrat wird die eventuell vorhandene Salicylsäure durch Aether (50 ccm) ausgeschüttelt, der Aether durch ein trocknes Filter filtrirt und an der Luft verdunstet. Besteht der Rückstand ans weissen Krystallen, deren alkoholische Lösung mit einigen Tropfen einer 1 proc. Eisenchloridlösung sich violett färbt, so ist Salicylsäure vorhanden (Girard).

4. Benzoesäure.

Eine grössere Menge Milch (3—500 ccm), wird durch Kalk- oder Barytwasser alkalisch gemacht, auf den vierten Theil ihres Volumens eingedampft, mit reinem Seesand, gepulvertem Bimstein oder Gyps zu einem dicken Brei angerührt und auf dem Wasserbade zur Trockne gedampft. Die Masse wird fein gepulvert, mit verdünnter Schwefelsäure befeuchtet und dem doppelten Volumen 50 proc. Alkohol kalt ausgeschüttelt. In den Alkohol gehen Milchzucker, Salze und event. Benzoësäure, Fett nur in Spuren. Er wird durch Barytwasser neutralisirt und (ohne das abgeschiedene Baryumsulfat abzufiltriren) auf ein kleines Volumen (10 ccm) eingedampft. Dieses wird mit verdünnter Schwefelsäure von neuem angesäuert und mit kleinen Mengen Aethers 3—4 Mal aus-

gezogen. Die aetherischen Auszüge hinterlassen beim Verdunsten fast reine Benzoësäure (mit Spuren von Fett).

Zur quantitativen Bestimmung trocknet man den Rückstand in einem Glasschälchen bei 60° oder über Schwefelsäure, wägt, erhitzt auf dem Wasserbad, bis die Benzoësäure weg sublimirt ist (man fängt das Sublimat zur Feststellung der Identität zweckmässig in einem übergestülpten zweiten Schälchen auf), wägt wieder und erfährt aus der Differenz der beiden Wägungen die vorhanden gewesene Menge. Man stellt mit dem Sublimat folgende Reactionen an: 1. Eine geringe Menge auf einem Uhrglas mässig erhitzt, erfüllt den durch ein zweites aufgelegtes Uhrglas abgeschlossenen Raum mit ausserordentlich feinen stark glänzenden Flittern (Sublimation). 2. Eine kleine Probe wird mit einigen Tropfen rauchender Salpetersäure abgedampft, der trockne Rückstand mit Sand gemischt und in einem Glasröhrchen stark erhitzt. Es tritt in Folge Bildung von Nitrobenzol ein stark bittermandelartiger Geruch auf!

5. Formalin.

Dieses neuerdings in den Handel gebrachte Präparat, eine 40 proc. Lösung von Formaldehyd in Wasser darstellend, soll nach einigen Autoren als Milchconservirungsmittel angewandt werden. Sein Nachweis ist ein einfacher: Mit Formalin versetzte Milch giebt beim Zusatz von Silbernitritlösung einen schwarzen Niederschlag, bei sehr geringen Mengen oft erst nach längerem Stehen eine bräunlichschwarze Trübung von abgeschiedenem reducirtem Silber. Die conservirenden Eigenschaften des Formalins sind in der That vorzügliche: Ein Zusatz im Verhältniss 1 : 5000 genügt um Milch bei 25° über 100 Stunden haltbar zu machen. In so geringer Menge zugesetzt ändert Formalin weder Geschmack noch Geruch der Milch. Nichtsdestoweniger ist seine Anwendung als Conservirungsmittel für zum Genuss bestimmte Milch zu verbieten, da sich gezeigt hat, dass es selbst in sehr geringer Concentration die Verdauung hemmt und die physiologische Zusammensetzung der Milch ändert. Auch auf die Eiweisskörper übt es Einfluss aus, indem es ihre Löslichkeit in Essigsäure, Schwefelsäure aufhebt. Die Resultate der angegebenen quantitativen Bestimmungsmethoden werden durch Anwesenheit von Formalin nicht beeinträchtigt, so dass es zur Conservirung von Milchproben, die erst nach längerer Zeit zur Untersuchung kommen, das beste Mittel sein dürfte (Thomson, Merkel, Krüger).

6. Chromsäure,

saures chromsaures Kalium, sowie Ammonium und Quecksilbersalze, Ammoniak, dienen ebenfalls zur Conservirung von Milchproben, natürlich nur

für zu analytischen Zwecken bestimmte. 0,25 g Kaliumdichronat genügt, um 250 ccm Milch 2 Monate lang vor der Gerinnung zu schützen. Chromsäure wird in Form 20 proc. wässriger Lösung angewandt. Ein Tropfen derselben hält 100 ccm Milch über 8 Tage frisch. 25 pCt. Ammoniak erzielt dieselben Resultate. Bei allen Mitteln ist Bedingung, dass die Temperatur der zu conservirenden Milch nicht über 10° C. steigt. Vergleichende Untersuchungen, z. B. Fettbestimmungen, vor und nach der Conservirung mit den genannten Präparaten zeigen keine Unterschiede, so dass ihrer Anwendung nichts im Wege steht.

7. Fluornatrium

in 1 proc. Lösung verhindert die Milchgerinnung auf 3—5 Tage. Man bedient sich einer 1 proc. Lösung. Eine brauchbare Methode zum Nachweis existirt nicht.

Nachweis von Verfälschungen.

A. Verfälschung durch Wasser.

Wohl die häufigste Verfälschung, der die Milch ausgesetzt ist, ist Wasserzusatz. Dieselbe ist durch die gewöhnliche Marktkontrolle nicht immer nachweisbar, da — wie schon erwähnt — mit dem Wasserzusatz oft eine Abrahmung Hand in Hand geht, wodurch das vorgeschriebene spec. Gew. nicht verändert wird. Es gelingt jedoch zuweilen, sie durch chemische Reactionen zu entdecken. Sie gründen sich darauf, dass in fast jedem Wasser ziemlich viel Salze, namentlich Gyps und Schwefelsäure, und oft Spuren von Salpetersäure vorhanden sind.

Die reine Milch enthält ausserordentlich wenig Schwefelsäure, höchstens 0,3 pCt., (berechnet als Asche). Findet man eine erheblich grössere Menge, so liegt Verdacht auf Wasserzusatz vor. Man führt die Probe so aus, dass man in ca. 50 ccm Milch durch Essigsäure das Casein ausfällt, abfiltrirt, das Filtrat eindampft, trocknet und verascht. Die Asche wird mit heissem Wasser und einigen Tropfen Salzsäure ausgezogen, der Auszug in der Siedehitze mit Baryumchloridlösung gefällt. Der nach einiger Zeit sich gut absetzende Niederschlag von Baryumsulfat wird abfiltrirt, erst mit verdünnter heisser Salszsäure, dann mit kochendem Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaction ausgewaschen, mit Filter getrocknet, dieses mit Niederschlag im Tiegel verbrannt, geglüht, gewogen und unter Abzug der Filterasche das Gewicht des Baryumsulfat ermittelt. 1 Theil Baryumsulfat entspricht 0,3433 Theilen SO_3.

Zum Nachweis von Salpetersäure, resp. salpetriger Säure koagulirt man die Milch einer salpetersäurefreien Lösung von Chlorcalcium, filtrirt vom Niederschlag ab und überschichtet mit dem Filtrat eine Lösung von Diphenylamin in concentrirter Schwefelsäure. Bei Gegenwart von Salpetersäure, auch nur der geringsten Spuren, entsteht an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten ein blauer Ring.

Egger und Möslinger wenden eine Lösung von 0,02 g Diphenylamin in 20 ccm Schwefelsäure (1 Schwefelsäure 3 Wasser) mit conc. Schwefelsäure zu 100 ccm aufgefüllt an. Davon werden 2 ccm in ein weisses Porzellanschälchen gebracht und tropfenweise 0,5 ccm Milchserum

hinzugefügt, das man durch Aufkochen von 100 ccm Milch mit 1,5 ccm einer conc. Chlorcalciumlösung und Abfiltriren vom entstandenen Niederschlag enthält. Man lässt zwei Minuten stehen, schwenkt das Schälchen gelinde, lässt stehn, schwenkt wieder und so fort, bis die bei Anwesenheit von Spuren von Salpetersäure an den Rändern entstandenen blauen Streifen sich verbreitert und die ganze Flüssigkeit blau gefärbt haben.

Beide Methoden versagen, wenn destillirtes Wasser, in dem weder schwefelsaures Salz noch Salpetersäure vorhanden, zugesetzt war. Zahlreiche andere sind vorgeschlagen, doch geben sie nur annähernde Resultate. Sie haben aber insofern Werth, als Manchem (z. B. dem Arzt) zur genauen Untersuchung oft Zeit und Hilfsmittel fehlen, während er in der Lage ist, die eine oder andere der leicht anzustellenden Prüfungen vorzunehmen, die ihm eventuell Veranlassung geben, auf Grund verdächtiger Resultate solche Milchproben dem Chemiker zur ausführlichen chemischen Analyse zu übergeben. Aus diesem Grunde seien einige der besten Verfahren hier besprochen. Sie beziehen sich sämmtlich auf Kuhmilch.

1. Lezé und Hilsont bestimmen die Zeit, die eine bekannte Menge Milch braucht, um durch Lab zu gerinnen. Die Methode giebt gleichzeitig Winke zur Beurtheilung der Frische. Auf unverfälschte frische Milch wirkt Lab bei 35° C. in 40 Minuten wie 1 : 10000 d. h. 1 Liter Lab vermag bei 35° C. in 40 Minuten 10000 Liter Milch zum Gerinnen zu bringen. Man verwendet zur Ausführung eine Lösung von gutem Handelslab und versetzt 100 ccm Milch mit 1 ccm derselben.

Reine Milch gerinnt in 3′11″, mit 10 pCt. Wasser versetzte in 3′14″, mit 50 pCt. Wasser in 5′49″. Liegt die Grenze der Gerinnung über 3′50″, so ist Verdacht auf Wasserzusatz oder alkalische Conservirungsmittel berechtigt. Andrerseits ist in weniger als 2′ gerinnende Milch wegen sicher eingetretener Zersetzungen für ungeniessbar zu erklären.

2. Lescoeur koagulirt die Milch zur Ermittelung des Wasserzusatzes mit Lab und bestimmt die Dichte des Serums bei 15°, sowie die Trockensubstanz desselben. Die Dichtigkeit darf schwanken zwischen 1,029 und 1,031, die Trockensubstanz pro Liter zwischen 67 und 71 g. Für 4 pCt. Wasserzusatz vermindert sich die Dichte um 0,001, die Trockensubstanz um 2 g pro Liter. Als Vergleich dient folgende Tabelle:

	Dichte bei 15° C.	Trockensubstanz p. Liter.
Reine Milch	1,0300	70,0
100 Milch + 10 Wasser.	1,0275	64,0
100 „ + 20 „	1,0251	59,0
10 „ + 30 „	1,0230	54,5

3. Beckmann bestimmt den Gefrierpunkt der Milch. Derselbe ist unabhängig vom Fett, abhängig vom Wassergehalt. Normale Milch ge-

friert bei durchschnittlich —0,554° C. Die Erniedrigung des Gefrierpunktes unter dem des Wassers ist proportional der Concentration, sinkt also bei Verdünnung der Milch mit der gleichen Menge Wassers um die Hälfte. Die zu untersuchende Probe wird in einer Mischung von Eis und Kochsalz zum Gefrieren gebracht, und derselbe Versuch mit einer Probe destillirten Wassers angestellt. Die Differenz der beobachteten Gefrierpunkte giebt die Erniedrigung. Ein Zusatz von 10 pCt. Wasser bewirkt eine solche von 0,055° C.

Auf Grund zahlreicher Analysen ist versucht worden Normalzahlen für die Menge der einzelnen Milchbestandtheile bei Prüfungen zu Grunde zu legen. So soll Verdacht auf Fälschung vorliegen, wenn der Fettgehalt der Trockensubstanz unter 27,6 pCt. und das spez. Gew. derselben unter 1,335 liegt (Herz).

Der Stickstoffgehalt unverfälschter Milch[1]) soll nie unter 0,5 pCt. sinken, Aschengehalte nie unter 0,7 pCt. Das Verhältniss von Asche zu Trockensubstanz minus Fett liegt in den Grenzen 1 : 8 — 8,5 (Droop-Richmond). Ferner soll normale Milch[2]) auf 1 Theil Casein nie mehr wie 1,74 Theile und nie weniger wie 1,35 Theile Fett enthalten (L. van Slyke). Dass die angegebenen Normalzahlen für alle Fälle Geltung haben muss man leider verneinen. Die Zusammensetzung der Kuhmilch (um die es sich wohl ausschliesslich handelt) ist von so vielen Factoren, wie Gegend, Race, Fütterung, Haltung, Dauer der Lactation u. s. w. beeinflusst, dass allgemeine Normen sich absolut nicht aufstellen lassen. Eine nie versagende Prüfung ist und bleibt die Stallprobe, d. h. die Untersuchung eigenhändig entnommener zahlreicher Milchproben der Thiere aus den Ställen, die im Kreise der Wirksamkeit des Untersuchenden liegen, und Vergleich der auf diese Weise gewonnenen Zahlen mit denen der verdächtigen Milch. Da der Fettgehalt, und in Folge dessen auch das spez. Gew., grossen Schwenkungen ausgesetzt sind, ist bei der Analyse auf die Bestimmung der andern Bestandtheile (Eiweiss, Asche, Zucker) um so mehr Gewicht zu legen.

B. Verfälschung durch Stärke, Dextrin u. s. w.

Zuweilen findet man entrahmte Milch zur Herstellung der ursprünglichen weissen Farbe mit Stärke versetzt. Ihr chemischer Nachweis war ein sehr einfacher. Die mit Essigsäure angesäuerte Milch wurde durch Kochen von den Eiweisskörpern befreit und das Filtrat mit wenigen Tropfen einer verdünnten Jodlösung versetzt. Bei Anwesenheit von

1) Nach 15000 Analysen.
2) Nach 25931 Analysen.

Stärke entsteht die bekannte blaue Färbung. Diese Probe ist jedoch als nicht mehr beweiskräftig zu erachten. Es ist in Milch und Molkereiproducten ein neuer, dieselbe Reaction gebender Körper, Amyloid (so von Herz genannt wegen seiner Aehnlichkeit mit der von Virchow entdeckten amyloiden Substanz pathologischer Milz, Leber und Nieren) nachgewiesen worden. Auch mikroskopisch zeigt sich das Amyloid in Grösse, Form und Verhalten der Stärke ähnlich, ist aber von dieser scharf unterschieden durch sein Verhalten gegen Wasser, Alkohol und Aether. Beim Kochen mit Wasser verkleistert es nicht wie jene, und wird auch beim Erwärmen mit Alkohol und Aether nicht wesentlich verändert. Es haben also fortan die mikroskopische Untersuchung und die genannten Reactionen mit der Jodprobe Hand in Hand zu gehen zur Prüfung auf einen Stärkezusatz. Dasselbe gilt von dem Nachweis von möglicher Weise zur Verfälschung benutzten Dextrins, Leim, Gummi.

Bestimmung des Milchschmutzes.

(Nach Renck.) Man lässt ein Liter Milch in einem hohen cylindrischen Gefäss mindestens zwei Stunden ruhig stehen, entfernt nach dieser Zeit den grössten Theil derselben durch vorsichtiges Abgiessen oder besser Abhebern und füllt den die suspendirten Schmutztheilchen enthaltenden Rest mit Wasser bis zum ursprünglichen Volumen auf, lässt wieder zwei Stunden stehen, hebert ab und setzt dieses Verfahren fort bis die Flüssigkeit im Gefäss fast klar aussieht, die Milch also völlig verdrängt ist. Man hebert nun die Flüssigkeit bis auf einen kleinen Rest vorsichtig ab (ohne das Sediment aufzurühren!) und filtrirt letzteren durch ein bei 105° getrocknetes und gewogenes Filter. Man wäscht einige Male mit destillirtem Wasser, dann zur Entfernung etwa im Sediment befindlicher Fettpartikelchen einmal mit Alkohol und mit Aether, trocknet dann bei 105° zum konstanten Gewicht und wiegt. Die Differenz zwischen dem leeren und dem das Sediment enthaltenden Filter giebt unmittelbar die Schmutzmenge eines Liters. Dieselbe beträgt nach Renck's Angaben für Berliner Marktmilch im Durchschnitt 10 mg.

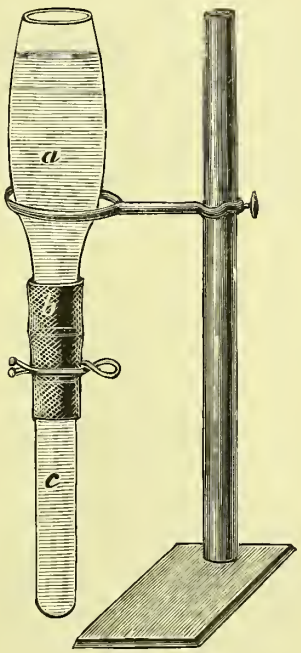

Fig. 7.

Um in Milchflaschen, wie sie aus Molkereien in das Haus gesandt werden, den Schmutz zu entfernen und eventuell zu bestimmen, empfiehlt sich ein von Stutzer angegebenes Verfahren: Auf der Milchflasche a (Fig. 7) wird mit Hülfe einer Gummiverbindung b ein starkes Reagirglas c luftdicht befestigt, die Flasche umgekehrt und längere Zeit in dieser Lage gelassen. Die Schmutztheilchen sinken zu Boden und sammeln sich in c. Es wird dann durch eine Klemmschraube die Verbindung zwischen Reagirglas und Flasche abgestellt, letztere entfernt und nach der eben beschriebenen Methode weiter gearbeitet.

Untersuchung der condensirten Milch.

Die Untersuchung der condensirten Milch geschieht nach den für die gewöhnliche Milch mitgetheilten Methoden. Man verdünnt eine bestimmte Menge des condensirten Präparates mit einer bekannten Menge Wasser und verfährt wie angegeben. Die Bestimmung der Trockensubstanz geschieht natürlich mit der unverdünnten Milch.

Zum Nachweis verdünnter condensirter Milch in frischer bedient man sich der Thatsache, dass ein Theil des Zuckers beim Eindampfen „Condensiren" caramelisirt und in Folge dessen optisch inactiv wird. Es giebt daher die Ermittlung des Zuckergehaltes mit Hülfe der Polarisation einen geringeren Werth, wie die titrimetrische oder gewichtsanalystische. Bei gewöhnlicher, frischer Milch beträgt die Differenz zwischen beiden Methoden nie mehr wie 0,15 pCt (Droop-Richmond).

Untersuchung geronnener Milchproben.

Geronnene Milchproben werden nach den gewöhnlichen Methoden untersucht. Zur Fettbestimmung löst man das Gerinnsel durch Zusatz einiger Tropfen verdünnter Kali- oder Natronlauge. Das specifische Gewicht ermittelt man nach einem von Weibul angegebenen Verfahren in folgender Weise: Eine bestimmte Menge Milch V_M wird mit einer bekannten Menge Ammoniak V_A von bekanntem, spez. Gew. Sp_A versetzt, durchgeschüttelt bis Alles gelöst ist, das Volumen der Mischung V_{Fl} und ihr spezifisches Gewicht Sp_{Fl} mit einem Aräometer gemessen. Es gilt denn die Gleichung $V_A\ Sp_A + V_M\ Sp_M = V_{Fl} + Sp_{Fl}$, in der nur Sp_M, das spezifische Gewicht der geronnenen Milch unbekannt und einfach zu berechnen ist.

Bakteriologische Untersuchung der Milch.

I. Einleitung. Herstellung der Präparate. Züchtung.

Die Milch enthält (fast) immer eine grössere Menge von Mikroorganismen, deren Zahl je nach der beim Melken und beim gesammten Betrieb der Milchwirthschaft geübten Reinlichkeit schwankt. Es hat sich herausgestellt, dass mit einem grossen Schmutzgehalt eine grosse Keimzahl parallel geht. Von dem Augenblick an, wo die Milch das Euter verlässt, vermehren sich die Bacterien ungemein schnell, wenn nicht durch Abkühlen, Conservirung, Erhitzen ihre Lebenskraft vernichtet oder geschwächt wird, so dass man durch Feststellung ihrer Zahl zuweilen Anhaltspunkte sowohl über Frische der Milch als auch über Sauberkeit des Betriebes, aus denen sie stammt, erhalten kann.

Es können aber auch in der Milch selbst, noch ehe sie das Euter verlässt, Bakterien enthalten sein und dies ist z. B. bei gewissen Krankheiten der Fall, deren Diagnose dann durch bacteriologische Untersuchung der Milch gestellt werden kann. In Frauenmilch, die unter allen Cautelen der sorgfältig gereinigten Brustdrüse steril entnommen wurde fand man verschiedene Coccenarten (Honigmann, Lewes, Palleske, Johannessen, Durante u. A.) Um in der Milch Bacterien nachzuweisen genügt in vielen Fällen die Anlegung einfacher Deckglastrockenpräparate, doch muss stets das Fett entfernt werden. Man nimmt mit der Platinnadel eine Oese der zu untersuchenden Milch, verreibt sie auf einem fettfreien reinen Deckglas mit Wasser zu möglichst dünner und gleichmässiger Schicht und lässt trocknen, ohne Anwendung der Flamme. Dann wird das Deckglas einige Minuten in Aether gelegt, wodurch das Fett gelöst wird und nach dem Herausnehmen in gewöhnlicher Weise gefärbt. C. Arens verbindet Entfettung und Färben. Das getrocknete Deckglaspräparat wird in eine Chloroform-Methylenblaulösung gelegt von folgender Zusammensetzung: 12 — 15 Tropfen gesättigte alkoholische Methylenblaulösung, 4 ccm Chloform. Färben 4 — 6 Minuten, dann abspülen.

Nicht immer gelingt der Nachweis auf so einfachem Wege. Die einzelnen Modificationen werden weiter unten besprochen werden.

II. Feststellung der Keimzahl.

Zur Feststellung der Zahl der in der Milch enthaltenen Keime giesst man Gelatineplatten nach Koch oder Petri'schalen und zählt die nach einer bestimmten Zeit gewachsenen Kolonien mit Hülfe eines Zählapparates. Für die Auszählung Koch'scher Platten eignet sich gut der Wolffhügel'sche Zählapparat. Da die Milch gewöhnlich eine sehr grosse Zahl von Keimen enthält, muss die auszusäende Probe passend verdünnt werden, im Sommer stärker wie im Winter. Für keimarme Milch verdünnt man 1 ccm Milch mit 9 ccm sterilem Wasser und impft von der Mischung 1 ccm = 0,1 ccm Milch auf 10 ccm Nährgelatine. Die Resultate pflegt man stets für 1 ccm anzugeben. Die Auszählung der Keime kann zur Feststellung des Grades von im Handel vorkommender sogen. steriler Milch dienen. Absolut keimfrei macht man die Milch selten, da hierbei nicht unbedeutende chemische Zersetzungen eintreten können, unter denen Aussehen, Geschmack, Bekömmlichkeit und Verdaulichkeit leidet.

Soll das Plattenculturverfahren zur Isolirung und Züchtung der einzelnen in der Milch enthaltenen Keime dienen, so müssen von dem geimpften Originalröhrchen in bekannter Weise Verdünnungen angelegt werden.

III. Die Milchfehler.

Die sogenannten Krankheiten der Milch oder „Milchfehler" haben oft ihren Grund in durch Mikroorganismen hervorgerufenen Prozessen. Die hauptsächlichsten dieser Milchfehler sind folgende:

1. Die rothe Milch. Sie wird durch verschiedene saprophytische (nicht pathogene) Bacterienarten hervorgerufen durch: Sarcinenarten, Bacillus prodigiosus, Bacterium lactis erythrogenus, Bacillus rubidus, Spirillum rubrum, Micrococcus cinnabareus und durch rosa Hefe.

a) Von den Sacinen sind es besonders die Sarcina rosea Menge, die Sarcina rosea Schrötter und die Sarcina aurantiaca. Die einzelnen Arten, deren Keime sich sehr häufig in der Luft finden, unterscheiden sich durch schnelle und langsame Verflüssigung der Gelatine von einander. Aurantiaca verflüssigt gar nicht und wächst sehr langsam. Alle wachsen auf den gewöhnlichen Nährböden und sind streng aerobe.

b) Der Bacillus prodigiosus ist ein sehr kleines kurzes Stäbchen ohne Eigenbewegung. Er wächst sowohl bei Zimmertemperatur, wie bei 37° und verflüssigt die Gelatine. Bei Brüttemperatur tritt keine Farbstoffbildung ein. Letztere geht Hand in Hand mit der Produktion von Trimethylamin. (Geruch nach Häringslake.) Besonders schön zeigt

sich die dunkelrothe Farbe auf Kartoffelkulturen; sie wird durch Behandlung mit Essigsäure hellroth. Ammoniak stellt die ursprüngliche Nuance wieder her. Sterile mit B. p. geimpfte Milch scheidet langsam Casein ab, die unter der Rahmschicht befindliche Serumzone wird allmählig blutroth.

c) Das Bacterium lactis erythrogenus Hüppe, verflüssigt die Gelatine und produzirt in Bouillon und auf festen Nährböden einen gelben, in Milch und Molken einen rothen Farbstoff. Durch Einwirkung von Licht und von Säuren wird die rothe Farbe beeinträchtigt.

d) Der Bacillus ruber ist ein langes fadenförmiges sehr lebhaft sich bewegendes Stäbchen, das isolirt zu zweien oder vieren gelagert ist und zuweilen 2 — 4 Sporen zeigt. Auf Agar erzeugt er gelben Belag, Gelatine wird verflüssigt, Kartoffel mit rostrother Haut überzogen.

e) Das Spirillum rubrum: dicke völlig helle durchsichtige Bacterien, regelmässige Schraubenwindungen erkennen lassend, an jedem Ende mit einer Geissel versehen. Die langen zeigen träge, die kurzen Spirillen sehr lebhafte Eigenbewegung. Die Vermehrung geschieht durch Quertheilung, Sporenbildung zweifelhaft. Das Spirillum wächst zwischen 16 und 40, am besten bei 37°. Auf Gelatine, die nicht verflüssigt wird, sehr langsames Wachsthum. Auf der Platte grauroth, Stecknadelkopf — grosse Häufchen; im Stich längs des Stichkanals röthliche runde kornartige Gebilde. Auf Agar und Blutserum zuerst grauweisse, später in dicken Schichten rosaroth werdende, scharf abgegrenzte Rasen. Auf Kartoffel röthlicher feuchtglänzender Belag.

f) Der Micrococcus cinnabareus ist ein grosser, oft in Form von Diplococcen, oft zu dreien und vieren angeordneter Coccus, der die Gelatine nicht verflüssigt. Er wächst sehr langsam, auf der Platte sind nach etwa 4 Tagen die tief gelegenen Kolonieen als hellziegelrothe Punkte zu sehen. Die Gelatinestichkultur zeigt in der Tiefe weisse Colonien, an der Oberfläche einen rosa, mit der Zeit dunkelroth werdenden Kopf.

g) Zuweilen ist die rothe Farbe der Milch bedingt durch im Blut oder Futter enthaltene Farbstoffe.

2. Die gelbe Milch wird erzeugt durch den Bacillus synxanthus (oder Bacterium synx. Ehrenberg). Der Mikroorganismus stellt lebhaft bewegliche Stäbchen dar, die auf sterile Milch geimpft, derselben eine citronengelbe Farbe verleihen. Der gelbe Farbstoff verschwindet durch Säure, erscheint aber beim Neutralisiren der Säure durch Alkali wieder. Er ist unlöslich in Alkohol und Aether. Die gelbe Milch hat einen ekelerregenden Geruch und Geschmack.

3. Eine blaue Färbung ertheilen der Milch der Bacillus cyanogenus, der Bacillus cyaneofluorescens Zangemeister und der Bacillus janthinus.

a) Der B. cyanogenus oder syncyaneus ist ein kleines Stäbchen, häufig zu zweien gruppirt. Zahlreiche an den Seiten befindliche Geisseln verleihen ihm lebhafte Eigenbewegung. Der B. gedeiht leicht auf leicht sauren Nährböden, am besten bei Zimmertemperatur. Auf der Gelatineplatte zeigt er oberflächliches Wachsthum, in der Stichcultur schmutzig grauen Belag. Sehr gutes Wachsthum auf Traubenzucker- und Glycerinhaltigen Nährböden. Sterile Milch wird schwach alkalisch und schieferblaugrau, rohe tief dunkelblau. Der B. wirkt sonst in keiner Weise zersetzend auf die Milch ein, seine Wirksamkeit beschränkt sich auf die Pigmentbildung.

b) Der B. cyancofluorescens T. unterscheidet sich scharf vom vorigen. Er ist von ovaler kurzer Form, zeigt Eigenbewegung, verflüssigt die Gelatine nicht, bewirkt aber eine gelbgrüne Fluorescens derselben. Auf Zuckergelatine wächst er als „weisser" Belag. Die Culturen riechen stark nach Trimethylamin. Im Gegensatz zum cyanogenus verändert er sterile Milch nicht, wohl aber entsteht Blaufärbung, wenn er mit dem B. acidi lact. zusammen eingesäet wird.

c) Der B. janthinus, ein Stäbchen, wächst auf der Gelatineplatte als weisse, allmählich an den Rändern violett werdende Auflagerung. Die Stichkultur ist nur an der Oberfläche violett. Auf Kartoffeln entstehen violette Auflagerungen. Sterile Milch zeigt auf der Rahmfläche blaue Flecke, nach einiger Zeit scheidet sich das Casein aus, es tritt alkalische Reaction und reichliche Bildung von Ammoniak ein.

4. Fadenziehende schleimige Beschaffenheit verschaffen der Milch die Micrococcen von Schmidt-Mühlheim. Die Duclaux'schen Bacterien und der B. lactis viscosus Adametz.

Der B. l. viscosus A. gedeiht auf allen Nährböden, besonders schön auf glycerinhaltiger Peptongelatine. Sterile Milch wird durch ihn nach 3—4 Wochen fadenziehend. Der Micrococcus viscosus von Schmidt-Mühlheim wächst in Rosenkranzketten und producirt einen den Pflanzenschleimen ähnlichen Schleim. Es entsteht im Gegensatz zu manchen anderen durch Mikroorganismen hervorgerufenen schleimigen Gährungsprozessen keine Kohlensäure. Nähere Angaben über die Cultur des Schmidt-Mühlheimschen Coccus fehlen.

5. Nicht fadenziehend, aber schleimig und seifig wird Milch durch den Micrococcus viscosus, einen von Weigmann und Zirn und einen von G. Leichmann gefundenen Bacillus.

a) Der M. viscosus wächst in Ketten und verleiht steriler Milch eine gummiartige, schleimige Viscosität.

b) Weigmann isolirte aus schleimiger, seifiger Milch vier Bacterienarten, von denen einer steriler Milch die geschilderten Eigen-

schaften mittheilt, während die andern nur eine gelbliche Färbung hervorrufen. Die betreffende Species bewirkt einen schleimigen Niederschlag und alkalische Reaction, der Niederschlag löst sich nach einiger Zeit, die Milch wird dünnflüssig und fluorescirt.

c) Der Leichmann'sche Bacillus ist ein schlankes Stäbchen mit abgerundeten Ecken, allein oder zu zweien, selten in Ketten liegend, das sterile Milch bis 50° unter heftiger Gasentwicklung und Gährung mit schleimiger Veränderung der Molke zersetzt.

6. Bittere Milch produciren der Proteus vulgaris Hauser, der Bacillus von Bleisch, der Bacillus und der Micrococcus liquefaciens lactis amari Freudenreich, die Bacterien der bitteren Milch von Hüppe, Flügge (vergl. unten), sowie eine Reihe von von Sterling aufgefundenen Bacterien. Der bittere Geschmack ist die Folge der Bildung von Pepton, das sich im Serum der peptonisirten Milch nachweisen lässt. Beim Versetzen desselben mit Kali oder Natronlauge und einigen Tropfen verdünnter Kupfersulfatlösung, entsteht eine violett bis rothe Färbung, die den Peptonen eigenthümliche Biuretreaktion.

Sogenannte „Giftige Milch", die auf den Organismus alkaloidartig wirkt, entsteht wahrscheinlich in Folge Bildung von Ptomainen oder Toxinen aus den durch Bacterien zersetzten Eiweisskörpern der Milch.

Zur Beseitigung der geschilderten Milchfehler, die meist eine Folge ungenügender Reinlichkeit sind, ist eine gründliche, nasse Reinigung der Ställe anzuordnen, frisches Kalken der Wände, Auskochen aller Gefässe und sorgfältige Waschung der Euter mit warmem, ausgekochtem Wasser, sowie peinliche Säuberung der mit dem Melken betrauten Personen.

Von den zahlreichen in fast jeder Milch enthaltenen Microorganismen verlangen die peptonisirenden Arten, die sogenannten Bacterien der bitteren Milch Hüppe's (vergl. oben) besondere Beachtung. Zu ihnen gehören eine Anzahl streng anaerobe und 12 facultativ anaerobe neuerdings von Flügge genauer beschriebene Arten (darunter nach Fl. wahrscheinlich die schon früher beschriebenen Bac. mesentericus fuscus und vulgaris, Bac. liodermis, B. albus lactis Löffler, B. butyricus Hüppe und Botkin, die Bacterien Duclaux, der Krüger'sche Bacillus, Proteus vulgaris, der Micrococcus Conn, Clostridium foetidum und butyricum, Bac. muscoides Liborius) und vier Varietäten einer von Sterling Bacterium lactis peptonans genannten Gattung. Es ist das Verdienst Flügge's, das Verhalten der die Milch, oder richtiger das Casein der Milch peptonisirenden Bacterien, die zum grössten Theil zur Gruppe der Heu- und Kartoffelbacillen gehören, genauer studirt und auf ihre gefährlichen Eigen-

schaften aufmerksam gemacht zu haben. Letztere liegen darin, dass sie ausserordentlich widerstandsfähige Sporen bilden, die erst durch zweistündige Einwirkung strömenden Dampfes von 100° abgetödtet werden und daher in den nach den üblichen Methoden sterilisirten Milchsorten noch in voller Lebenskraft enthalten sind. Ausserdem macht sich ihre Anwesenheit in roher und gekochter, bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrter Milch nicht bemerkbar, wohl aber zeigt sich ihre Wirkung, wenn die unvollkommen sterilisirte Milch im Brütschrank bei 37° gehalten wird. Solche Milch, oder mit Reinculturen der peptonisirenden Bacterien geimpfte sterile, zeigt nach ein- bis fünftägigem Stehen tiefgreifende Veränderungen. Unter der Rahmschicht bildet sich eine transparente Zone, die nur Serum zu enthalten scheint. Allmählich wird die transparente Zone breiter, das noch nicht peptonisirte Casein beginnt sich in Flocken auszuscheiden; in den meisten Fällen bildet sich nebenbei Labferment. Die so veränderte Milch hat einen bitteren, kratzigen, peptonartigen Geschmack. Die Identificirung der einzelnen Arten stösst auf grosse Schwierigkeiten. Sie ist durch Culturen auf Agar- und Gelatineplatten nicht möglich, gelingt eher durch Züchtung auf Kartoffeln, entrahmter, absolut steriler Milch, alkalischer Gelatine, Stichkultur in Zuckeragar. Oft versagen auch diese Methoden, und es ist das Studium der Stoffwechselproducte und der Absterbebedingungen zur sicheren Diagnose erforderlich. Eine genaue und ausführliche Beschreibung aller einschlägigen Verhältnisse findet sich bei Flügge's Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten, Band XVII. 292.

Während die Ursachen der anormal bei neutraler oder alkalischer Reaction geronnenen Milch in der Anwesenheit und Thätigkeit der eben besprochenen Bacterienarten liegt, wird die normale, saure Gerinnung durch eine Reihe weit verbreiteter Arten hervorgerufen, den Bacillus acidi lactici Hüppe, Bacterium acidi lactici Grotenfeld, Bacterium limbatum acidi lactici Marpmann, Bacillus acidi lactici Leichmann, Micrococcus Marpmann, Sphaerococcus Marpmann und Streptococcus acidi lactici Grotenfeld. Die Unterschiede der einzelnen Arten liegen hauptsächlich in der Physiologie. So producirt z. B. der B. a. l. Hüppe Milchsäure und Kohlensäure, der B. a. l. Leichmann Milchsäure und Aethylalkohol u. s. f.

IV. Nachweis einzelner pathogener Bakterien in der Milch.

1. Tuberkelbacillus.

Zuweilen gelingt es den Bacillus durch das Deckglastrockenpräparat nachzuweisen. Zur Anfertigung eines solchen sind verschiedene Vorschriften angegeben.

a) Nach C. Ahrens bringt man 1 Tropfen Milch auf das Deckglas, mischt mit 1 Tropfen sterilen Wassers, lässt an der Luft trocknen und fixirt durch geringes Erwärmen. Darauf kommt das Deckglas (am besten in ein Schälchen) in eine Mischung von 3 Tropfen alkoholischer concentrirter Fuchsinlösung und 3—4 ccm Chloroform. Nach 10 Minuten Uebertragen in 4—6 ccm Alkohol von 96 pCt., der mit 2—3 Tropfen verdünnter Salzsäure versetzt ist, Abspülen in Wasser, Nachfärben in wässrigem Methylenblau.

b) Verfahren von Alessi: Ein Tropfen Milch wird bei mässiger Wärme auf dem Deckglas getrocknet, mit 2—3 Tropfen 1 proc. Sodalösung übergossen, wieder erwärmt, bis Verseifung des Fettes stattgefunden (3—4 Minuten), mit Wasser abgewaschen und wie gewöhnlich gefärbt, z. B. nach Gabbet: 2 Minuten in der Kälte mit Carbolfuchsin, 50 Sekunden in der Kälte mit Schwefelsäure-Methylenblau Gabbet, d. i. Methylenblau 2, 25 pCt. Schwefelsäure 100.

c) Verfahren nach Schranck: Ein Tropfen verdünnter Milch wird auf dem Deckglas an der Luft getrocknet, das Casein durch Auflegen des Glases auf ein Kupferblech und Erhitzen desselben fixirt, ohne dass Braunfärbung eintritt. Einlegen in ein Schälchen mit 4 ccm Aether oder Chloroform, so lange schütteln, bis die Flüssigkeit verdunstet ist, dann Färbung wie gewöhnlich. Bei negativem Ausfall dieses Verfahrens muss der Versuch mit einer grösseren Menge Milch wiederholt werden. 100 g Milch werden dann mit ca. 5 ccm Natronlauge vermischt und mit grossen Mengen Aethers so lange im Scheidetrichter ausgeschüttelt, bis kein Fett mehr in Lösung geht. Durch Verdunstung einer Probe des abgegossenen Aethers überzeugt man sich von dieser Thatsache. Die fettfreie Flüssigkeit kommt in ein Spitzglas oder einen Sedimentirungsapparat und bleibt 24 Stunden ruhig stehen. Nach dieser Zeit wird von einer Probe des Sediments in der geschilderten Weise ein Trockenpräparat gemacht.

d) Verfahren nach Thörner: 20 ccm Milch mit 1 ccm 50 proc. Kalilauge versetzt, werden in Centrifugenröhrchen gebracht, dieses etwa 2 Minuten in kochendes Wasser gestellt, bis die Milch gelbbraun geworden, herausgenommen, durchgeschüttelt, die Mischung mit 20 ccm Eisessig gemischt, wieder durchgeschüttelt, drei Minuten in kochendes Wasser gestellt und 10—20 Minuten centrifugirt. Vom Bodensatz wird die überstehende Flüssigkeit abgehoben, derselbe mit ca. 40 ccm heissem Wasser aufgeschlämmt, wieder 10 Minuten centrifugirt und vom Sediment in bekannter Weise ein Deckglaspräparat gemacht.

e) Verfahren nach Ilkewitsch: 20 ccm Milch werden durch Citronensäure zum Gerinnen gebracht, abfiltrirt, der Filterrückstand in

sehr verdünnter wässriger Lösung von Natriumphosphat gelöst, mit ca. 10 ccm Aether versetzt und 10—15 Minuten geschüttelt. Die unter der Fettschicht befindliche Lösung wird abgelassen, centrifugirt und vom Sediment ein Präparat auf dem Deckglas angefertigt.

Ziemlich schwierig ist die Züchtung von Tuberkelbacillen aus Milch. Dieselben gedeihen unter Ausschluss von Luft und Licht von festen Nährböden nur auf Rinderblutserum und Glycerin-Agar. Sie wachsen ausserordentlich langsam und werden trotz grosser Verdünnung der ausgesäeten Milchprobe sehr leicht durch die schnell und üppig wachsenden saprophytischen Bacterien der Milch überwuchert. Besser als die festen Nährmedien eignen sich zum Nachweis der Tuberkelbacillen die flüssigen, von letzteren ganz besonders die Nocard'sche Bouillon (Nährbouillon mit 6 pCt. Glycerin und 3 pCt. Gelatine). Man setzt zweckmässig eine grosse Anzahl von Proben an und hält sie mindestens drei Wochen bei 37° im Brutschrank. Von den auf die eine oder andere Weise gezüchteten Colonieen werden mikroskopische Präparate angelegt und in bekannter Weise gefärbt.

Einen sicheren Aufschluss, ob in der Milch Tuberkelbacillen vorhanden sind, resp. ob ihre Menge so gross ist, dass nach dem Genuss der Milch Tuberkulose entstehen kann, erhält man durch den Thierversuch. Man füttert am besten Meerschweinchen, event. auch Kaninchen mit der verdächtigen Milch und beobachtet nach 8—10 Wochen Tuberculose des Darmes, der Mesenterialdrüsen und der Leber. Statt der Fütterung kann man auch intraperitoneale Injection anwenden. Dazu eignet sich namentlich der durch Centrifugiren gewonnene „Milchschlamm" der unreinen Milch. Durch Section der gestorbenen resp. geschlachteten Versuchsthiere wird man das Vorhandensein der Tuberculose diagnostiziren.

2. Der Cholerabacillus.

Sein Nachweis stösst auf grosse Schwierigkeiten und muss nach den für die Untersuchung des Wassers gültigen Methoden geschehen. Weder Färbung noch Aussehn noch Thierversuch sind besonders charakteristisch, seine Identität kann vielmehr nur durch Züchtung festgestellt werden. Zur Diagnose des Cholerabacillus kann man ein von Koch angegebenes Verfahren benutzen. Man stellt sich Vorkulturen her, indem man das zu untersuchende Material in eine alkalische 1 proc. Peptonlösung bringt und diese im Brutofen bei 37° hält. Innerhalb 6—12 Stunden haben sich etwa vorhandene Cholerabacillen stark vermehrt und an der Oberfläche der Flüssigkeit gesammelt, zuweilen ein feines Häutchen bildend (wegen des grossen Sauerstoffbedürfnisses). Von der Ober-

fläche der Peptonlösung, event. von dem Häutchen legt man dann Agar- und Gelatinekulturen an. Erstere zeigen am besten bei 37, letztere zeigen bei 22° charakteristisches Wachsthum und Reaction nach 12 Stunden. Bezüglich letzterer Punkte muss auf ausführliche Lehrbücher der Bacteriologie verwiesen werden. Erwähnt sei nur, dass die Cholerabacillen nur auf alkalischen Nährböden wachsen, Blutserum verflüssigen, die Choleraroth-Indolreaction geben und ausserordentlich empfindlich gegen Austrocknen sind.

3. Der Typhusbacillus.

Ebenso schwierig wie der Erreger der Cholera ist der Typhusbacillus in der Milch nachzuweisen, namentlich dadurch, dass er leicht von ihm sehr ähnlichen und fast immer mit ihm zusammen vorkommenden Arten überwuchert wird, z. B. vom Bacterium coli commune. Zur Unterscheidung dieser beiden Microorganismen bedient man sich ausser den verschiedenen Reactionen mit ihren Reinkulturen (Indolreaction Verhalten gegen sterile Milch u. s. f.) eines von Elsner angegebenen Kulturverfahrens auf Platten von mit 1 proc. Jodkalium versetzter Kartoffelgelatine. Auf diesem Nährboden zeigen sich Kolonieen von Bacterium coli commune nach 24 Stunden als gelblich weisse Punkte, Typhus ist zu dieser Zeit noch nicht gewachsen. Nach 48 Stunden bildet Typhus hellglänzende kleine Knöpfchen, Bacterium coli commune grosse braune Flecken.

Zur Bereitung des Elsner'schen Nährbodens werden 500 g Kartoffeln mit einem Liter Wasser ausgezogen, zu dem Auszug 100 g Gelatine gegeben, je 10 ccm Kartoffel-Gelatine durch 2,5—3 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge alkalisch gemacht und mit 1 proc. Jodkalium versetzt.

Die Methodik der Züchtung der genannten Arten, sowie der zuweilen vorkommenden pyogenen Staphylococcen und Streptococcen, des Streptococcus der infectiösen Induration oder des Streptococcus agalactiae contagiosae, der Erreger der chronischen und acuten Mastitis der Kühe, des Staphylococcus und Streptococcus Guillebeau, des Bacillus Guillebeau u. s. w. bedarf keiner besonderen Auseinandersetzung; sie geschieht nach den in der Bacteriologie allgemein geltenden, hier als bekannt vorauszusetzenden Gesichtspunkten.

Der Bacillus Guillebeau ist ein facultativ anaerobes mit Gasentwicklung wachsendes Stäbchen mit Eigenbewegung, das die Gelatine nicht verflüchtigt, im Stich mit feingezacktem irisirendem Kopf nagelartig wächst und sterile Milch zum Gerinnen bringt. Auf Kartoffeln entstehen weiss bis braune Beläge. Nach Gram färbt sich der Bacillus

nieht. Gegen Meerschweine und Kaninchen nicht pathogen, bewirkt er in das Euter geimpft Mastitis.

Der Staphylococcus mastitis Guillebeau ist nach Gram färbbar und zeigt Eigenbewegung. Er wächst facultativ anaerob ohne Gasentwicklung, verflüssigt Gelatine unter Bildung eines Bodensatzes und bringt sterile Milch zum Gerinnen. Auf Kartoffel gelblichweisser Belag. Der Streptococcus mastitis sporadicae Guillebeau, ebenfalls facultativ anaerob, verflüssigt die Gelatine und gedeiht nur sehr spärlich auf Kartoffel. Bei Impfungen zeigt er keine pathogenen Eigenschaften.

Anhang.

Untersuchung von Kindermehlen, Milchpulver und anderen festen Milchkonserven.

Die Untersuchung hat sich zu erstrecken auf die Bestimmung von Trockensubstanz (Wasser), Asche, Phosphorsäure in der Asche, Nachweis von event. durch die Verpackung in die Asche gelangten schädlichen Metallen, Fett, Eiweisskörper, Menge der im Wasser löslichen Substanzen (Extract) und Kohlehydrate (Zucker und Stärke). Man nimmt eine gut gemischte Durchschnittsprobe.

1. Die Trockensubstanz wird nach der bei der Milch gegebenen Anleitung (S. 12) zweckmässig in 10 g bestimmt.

2. Dasselbe gilt von der Asche und der Phosphorsäure. In der Asche ist besonders, wenn zur Verpackung Blechbüchsen angewandt werden, zu prüfen auf Arsen, Antimon, Blei und Zinn.

3. Fett: 10 g werden im Soxhlet'schen Extractionsapparat mit Aether extrahirt, die Aetherfettlösung verdunstet, das zurückbleibende Fett gewogen (vergl. S. 14).

4. Extract: 25 g werden mit heissem Wasser ausgezogen und dieses so oft erneuert, bis nichts mehr in Lösung geht. Die zweckmässig mit Hülfe eines an den Seiten mit Löchern versehenen Trichters durch Mull oder Nessel filtrirten, gesammelten wässrigen Auszüge werden auf ein bestimmtes Volumen gebracht (in der Regel wird es 1 Liter sein) abgekühlt, ein aliquoter Theil, etwa 50 oder 100 ccm, auf dem Wasserbade in einer Platinschale (oder Porzellan) zur Trockne verdampft, bei

105° bis zum constanten Gewicht getrocknet, gewogen und das Resultat auf die ganze Flüssigkeitsmenge berechnet.

5. Kohlehydrate: Von der bei der Extractbereitung erhaltenen Lösung wird eine abgemessene Menge, vom Liter etwa 200 ccm mit 5 g concentrirter Schwefelsäure (oder 18 ccm concentrirter Salzsäure) versetzt und 5 Stunden in einem mit einem Rückflusskühler (vergl. S. 14) versehenen Kolben gekocht. Dadurch werden sämmtliche Kohlehydrate „invertirt", d. h. in Trauben- und Fruchtzucker übergeführt und können nach einer der beim Milchzucker angegebenen Methoden bestimmt werden. Man bringt die auf Zimmertemperatur abgekühlte invertirte Lösung auf ein bestimmtes Volumen, nimmt einen aliquoten Theil derselben und verfährt wie bei der Milchzuckerbestimmung S. 28 angegeben.

Gedruckt bei L. Schumacher in Berlin.